Encyklopädie
der
Mikroskopischen Technik
mit besonderer Berücksichtigung der
Färbelehre.

In Verbindung mit

Prof. Dr. E. Ballowitz, Greifswald — Dr. Bargum, Altona — Prof. Dr. C. Benda, Berlin — Docent Dr. A. Bethe, Strassburg — Dr. F. Blum, Frankfurt a. M. — Dr. W. Cowl, Berlin — Prof. Dr. A. Dogiel, St. Petersburg — Docent Dr. A. Fischel, Prag — Dr. F. Friedmann, Berlin — Prof. Dr. M. Heidenhain, Tübingen — Dr. C. Helbing, Berlin — Dr. H. Herzog, Berlin — Dr. B. Heymann, Breslau — Wirkl. Staatsrath Prof. Dr. H. Hoyer, Warschau — Prof. Dr. H. Hoyer, Krakau — Dr. F. Juliusberg, Frankfurt a. M. — Prof. Dr. E. Kallius, Göttingen — Dr. V. Klingmüller, Breslau — Docent Dr. F. von Krzysztalowicz, Krakau — Prof. Dr. A. Künnemann, Hannover — Dr. R. Ledermann, Berlin — Prof. Dr. O. Lubarsch, Posen — Dr. W. Magnus, Berlin — Prof. Dr. P. Mayer, Neapel — Prof. Dr. R. Metzner, Basel — Docent Dr. F. Meves, Kiel — Dr. L. Michaelis, Berlin — Prof. Dr. E. Müller, Stockholm — Dr. C. Neuberg, Berlin — Docent Dr. L. Neumayer, München — Prof. Dr. F. Nissl, Heidelberg — Dr. Nocht, Hamburg — Docent Dr. R. Oestreich, Berlin — Dr. A. Pappenheim, Hamburg — Docent Dr. K. Peter, Breslau — Geh. Regierungsrath Dr. R. J. Petri, Görbersdorf — Dr. F. Pinkus, Berlin — Dr. H. G. Plimmer, London — Dr. H. Poll, Berlin — Prof. Dr. Fr. Reinke, Rostock — Prof. Dr. J. Schaffer, Wien — Geh. Medicinalrath Prof. Dr. H. Senator, Berlin — Prof. Dr. B. Solger, Greifswald — Prof. Dr. W. Spalteholz, Leipzig — Prof. Dr. A. Spuler, Erlangen — Prof. Dr. F. Strassmann, Berlin — Prof. Dr. L. Szymonowicz, Lemberg — Docent Dr. K. v. Tellyesnicky, Budapest — Docent Dr. R. Thomé, Strassburg — Dr. P. G. Unna, Hamburg — Stabsarzt Dr. v. Wasielewski, Berlin — Docent Dr. G. Wetzel, Berlin — Geh. Regierungsrath Prof. Dr. O. N. Witt, Charlottenburg — Dr. A. Wolff, Königsberg — Prof. Dr. O. Zoth, Innsbruck

herausgegeben von

Prof. Dr. Paul Ehrlich,
Geh. Medicinalrath und Direktor des königlichen Institutes für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M.

Dr. Rudolf Krause,
a. o. Professor an der Universität Berlin.

Dr. Max Mosse,
Assistent an der medicinischen Poliklinik der Universität Berlin

Prof. Dr. Heinrich Rosin,
Berlin

Prof. Dr. Carl Weigert,
Geh. Medicinalrath und Direktor des Dr. Senckenbergischen pathologisch-anatomischen Institutes zu Frankfurt a. M.

ERSTER BAND
A — Lakmoïd
(Bog. 1 — 44).

Mit 51 Abbildungen.

URBAN & SCHWARZENBERG
BERLIN
N., FRIEDRICHSTRASSE 105[b]
WIEN
I., MAXIMILIANSTRASSE 4
1903.

VORWORT.

Während auf fast allen Gebieten der Naturwissenschaften umfassende Sammelwerke existiren, hat bis jetzt die Mikrotechnik eines solchen entbehrt. Und doch liegt unseres Erachtens gerade hiefür ein besonderes Bedürfniss vor. Der in irgend einem Zweige der Mikroskopie praktisch arbeitende Forscher sieht sich gezwungen, die technischen Angaben in den einzelnen, oft nur schwer zu erlangenden Specialarbeiten nachzuschlagen. Hier wird er häufig auf ihm unbekannte Reagentien oder Farbkörper stossen, über deren Eigenschaften er sich gerne informiren möchte. Dazu bedarf es aber wiederum eines ausführlichen Handbuches der Chemie, der chemischen Technologie, der praktischen Färberei etc., das einmal nicht Jedem zugänglich ist und in dem er andererseits auch nicht in jedem Falle die gewünschte Auskunft findet.

Nun besitzen wir ja eine stattliche Anzahl zum Theil recht brauchbarer Lehrbücher, Kompendien, Grundrisse und Taschenbücher, welche die eine oder andere Seite der Mikrotechnik behandeln. Sie sind mit wenigen Ausnahmen jedoch zu wenig ausführlich gehalten, und die ausführlichen unter ihnen behandeln auch nur die Methoden selbst, nicht aber die in ihnen wirkenden Komponenten. Das letztere aber ist doch für Jeden von Wichtigkeit, der nicht nur sklavisch eine Methode nacharbeiten, sondern tiefer in ihr Wesen eindringen will. In allerneuester Zeit sind dann noch einige Kompendien erschienen, welche sich ausführlicher vom Standpunkte des Mikrotechnikers aus mit der Konstitution und Verwendung der Anilinfarben befassen. Mag nun auch jedes dieser Werke auf seinem speciellen Gebiete Vorzügliches leisten, so fehlte doch bislang ein umfassendes Werk, das alles das bringt, was für den Mikrotechniker von Bedeutung ist.

In diese Lücke soll das vorliegende Werk eintreten. Es soll die gesammte Mikrotechnik behandeln, also umfassen die Technik der mi-

kroskopischen Untersuchung thierischer und pflanzlicher Präparate im normalen und pathologischen Zustand, mit Ausschluss der Nahrungsmittel und der Pharmakognosie. Es sollen in ihm die wichtigsten Methoden für die Untersuchung aller Gewebe, Organe und Thierklassen aufgeführt werden. Es sollen ferner alle jene zahllosen Reagentien und Farbstoffe in Bezug auf ihr chemisches und physikalisches Verhalten abgehandelt werden, insoweit das für die Mikrotechnik von Belang ist. Dass das Instrumentarium des Mikroskopikers in Wort und Bild nicht unerwähnt bleibt, bedarf wohl kaum der Erwähnung. Auch die so häufig stiefmütterlich behandelte theoretische Seite unserer Wissenschaft, wie z. B. die Theorie der Fixation und Färbung, soll in gebührender Weise berücksichtigt werden.

Zu dem Zustandekommen des Werkes haben die Herausgeber eine grosse Zahl von Mitarbeitern zur gemeinsamen Arbeit gewonnen. Für einen Einzelnen ist es ja wohl unmöglich, das ganze ungeheuere Gebiet zu beherrschen, und andererseits war es auch das Bestreben der Herausgeber, das Werk recht vielseitig zu gestalten und die einzelnen Methoden möglichst von ihren Entdeckern oder doch von solchen Gelehrten darstellen zu lassen, welche auf dem betreffenden Gebiete über eine möglichst ausgiebige Erfahrung verfügen.

Natürlich liess es sich dabei nicht vermeiden, dass in einzelnen Artikeln auch widerstreitende Ansichten laut werden. Aber sollte das wirklich dem Werke zum Nachtheile gereichen? Wir glauben nicht. Wird doch so der Leser in den Kampf der Meinungen eingeführt und vermag sich dann sein eigenes Urtheil zu bilden.

Dass in ein so gross angelegtes Werk sich manche Mängel einschleichen, dass sich vielleicht an der einen Stelle unnöthige Längen breit machen, während ein anderes Kapitel eingehender behandelt zu werden verdiente, ist selbstverständlich und unvermeidlich. Trotzdem hoffen wir, dass jeder Leser in unserem Werke auch das finden wird, was er sucht. Es ist bestimmt für jeden, der sich praktisch mikroskopisch bethätigt, und wir glauben, dass es in gleichem Masse dem Arzt am Krankenbett, wie dem Anatomen im Laboratorium und auch dem Botaniker oder Zoologen am Meeresstrand von Vortheil sein wird.

Was die Anordnung des Stoffes anlangt, so wurde, um das Auffinden der einzelnen Daten möglichst zu erleichtern, die alphabetische Reihenfolge der Artikel gewählt. Jedes Salz wurde unter der betreffenden Base aufgeführt; man wird also z. B. nicht schwefelsaures Natrium, sondern Natrium-

sulfat nachschlagen müssen. Bei jedem Körper wurden die gebräuchlichsten Synonyme aufgeführt; vor allem gilt das von den organischen Farbstoffen, von denen ja jede Fabrik ihre eigenen Marken besitzt. So wird man z. B. das salzsaure Triamidoazobenzol unter seinem gebräuchlichsten Namen Bismarckbraun abgehandelt finden. Gleichzeitig aber erfährt man unter den Stichworten Manchesterbraun und Vesuvin, dass dieselben Synonyme für Bismarckbraun sind und unter jener Bezeichnung von Casella resp. Ludwigshafen in den Handel gebracht werden. Bei jedem Farbstoff ist, soweit sich das überhaupt feststellen liess, angegeben, von welcher Fabrik er dargestellt wird. (Die betreffenden Abkürzungen sehe man am Schlusse des Werkes ein.) Das ist unseres Erachtens von grosser Wichtigkeit. Man sollte sich niemals damit begnügen, anzugeben, dass ein Farbstoff von diesem oder jenem Händler stammt, sondern sich immer auf die Fabrikationsquelle selbst beziehen.

Die einzelnen Artikel sind so angeordnet, dass das am meisten bezeichnende Wort als Stichwort gewählt wurde. So findet man z. B. Physiologische Injektion unter Injektion, physiologische, Intravitale Färbung unter Färbung, intravitale, Beobachtung des lebenden und überlebenden Objekts unter Lebendes und überlebendes Objekt, Beobachtung desselben. Einige wenige Abweichungen von diesem Principe wolle man aus äusseren Gründen entschuldigen.

Grosser Werth ist auf möglichst genaue Anführung der einschlägigen Litteratur gelegt. Dem ganzen Werk ist ein alphabetisches Verzeichniss der citirten Autoren angehängt. Es geschah das aus dem Grunde, dass im allgemeinen die Methoden nicht unter dem Namen ihres Entdeckers, sondern entweder bei dem Organ, für das sie bestimmt, oder bei den chemischen Agentien, die in ihnen wirksam sind, angeführt wurden. So ist z. B. die van Giesonfärbung unter Hämatoxylin oder Säurefuchsin, die Hermann'sche Fixation unter Platinchlorid, die Müller'sche Flüssigkeit unter Chromsaure Salze zu suchen. Das Autorenregister wird in schwierigen Fällen die Auffindung einer Methode erleichtern.

Was die Vertheilung des Stoffes anlangt, so ist jeder Artikel mit dem Namen des betreffenden Autors unterzeichnet. Die nicht unterzeichneten Artikel sind von der Redaktion (R. Krause) geliefert, der auch die Anordnung und Vertheilung der einzelnen Artikel oblag.

Unseren Herren Mitarbeitern, die ihre Kraft freudig in den Dienst unseres Werkes stellten und denen dasselbe in erster Linie sein Zustandekommen verdankt, sei an dieser Stelle unser aufrichtigster Dank ausgesprochen.

Der Umfang des Werkes war ursprünglich nur auf 40—50 Druckbogen festgesetzt, aber der Stoff wuchs unaufhörlich unter unseren Händen, so dass das Ganze schliesslich fast auf den doppelten Umfang gedieh. Wir hatten uns dabei seitens unserer Herren Verleger des liebenswürdigsten Entgegenkommens zu erfreuen. Dafür und für die würdige Ausstattung, die sie dem Ganzen gegeben, gebührt ihnen unser ganz besonderer Dank.

So übergeben wir nun das Werk unseren engeren und weiteren Fachgenossen. Möchte unsere gemeinsame Arbeit eine günstige Aufnahme und wohlwollende Beurtheilung finden und möchte sie allen, die mikroskopisch arbeiten, sich als treuer Pfadfinder erweisen.

Frankfurt a. M. und Berlin, Weihnachten 1902.

Die Herausgeber.

A.

Abbe'scher Beleuchtungsapparat siehe Mikroskop.

Abbe'scher Zeichenapparat siehe Zeichnen mikroskopischer Präparate.

Abdominaltyphus. Der Erreger des Abdominaltyphus wurde von Eberth und R. Koch in den Organen von Typhuskranken nachgewiesen und von Gaffky rein gezüchtet.

Der mikroskopische Nachweis in Organschnitten ist selbst an den Prädilectionsstellen, den Follikeln des Darms, den Mesenterialdrüsen und der Milz, meist schwierig, weil die Bacillen fast immer nur in kleinen, von den Gefässen ausgehenden Häufchen in dem Gewebe liegen. Koch empfahl zur Färbung besonders Bismarckbraun, Gaffky scheint hingegen dem Methylenblau den Vorzug gegeben zu haben. Seine Vorschrift lautet: Die Schnitte der in Alkohol gehärteten Organe verbleiben 20—24 Stunden in einer tiefblauen, undurchsichtigen Farbflüssigkeit, welche durch Eingiessen von gesättigter alkoholischer Methylenblaulösung in destillirtes Wasser zu jeder Untersuchung frisch bereitet wird. Dann werden sie in destillirtem Wasser ohne Säurezusatz abgespült, in absolutem Alkohol gut entwässert, in Terpentinöl aufgehellt und in Kanadabalsam eingelegt. Uebrigens bemerkt er, dass die Färbung auch mit Gentianaviolett, Bismarckbraun und Fuchsin brauchbare Bilder liefere, und dass die braungefärbten Präparate vor den blaugefärbten den Vorzug längerer Haltbarkeit besässen, was allerdings richtig ist. Doch geben dieselben nicht so deutliche Bilder wie die Methylenblaupräparate. Besonders schön gelingen dieselben nach unseren Erfahrungen mit Löffler's alkalischer Methylenblaulösung unter leichtem Erwärmen circa 10 Minuten lang. Die Fixirung des Materials (kleine Stückchen!) geschieht zweckmässig in dem Carnoy'schen Gemisch von 60 Theilen 96%igen Alkohols, 30 Theilen Chloroform und 10 Theilen Eisessig, die Einbettung nach der gewöhnlichen Technik in Paraffin.

Der Nachweis von Typhusbacillen im Stuhl, Harn, Blut etc. von Typhuskranken durch mikroskopische Präparate scheitert theils an der Spärlichkeit, in der sie z. B. im Blut vorhanden sind, theils an dem Mangel einer specifischen Färbung. Auch die Gramfärbung wird von ihnen nicht angenommen.

Präparate von Reinkulturen färben sich etwas schwieriger mit den gewöhnlichen, wässerigen Farblösungen als die meisten anderen Bakterien. Bei Innehaltung der gewöhnlichen Technik bleiben im Präparate stets eine Anzahl Individuen matt gefärbt, weshalb Gaffky und nach ihm Günther empfohlen haben, die Farbwirkung durch leichte Erwärmung während der

Färbung zu erhöhen. Ausserdem schwankt die Färbbarkeit noch mit den verschiedenen Nährböden, dem Alter der Kultur und den Rassen, entsprechend den Schwankungen der morphologischen Eigenthümlichkeiten, welche die Bacillen verschiedener Abkunft und unter verschiedenen Bedingungen aufweisen. Sie stellen zumeist plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden von durchschnittlich 0,08—0,1 μ Durchmesser im ungefärbten und 0,5—0,8 μ im gefärbten Präparat dar. Die Länge schwankt zwischen 1—3—5 μ, sie bilden häufig völlig ungegliederte, weniger oft deutlich gegliederte Fäden. Die einzelnen Bacillen haben eine sehr lebhafte Eigenbewegung, welche am besten im hängenden, mit Bouillon angefertigten Tropfen zu beobachten ist. Hierbei bediene man sich stets nur junger, ca. 6—12stündiger Kulturen, welche man erst kurz vor Anfertigung des Präparates aus dem Brütschrank herausnehmen darf, weil die Beweglichkeit in niedrigeren Temperaturen oft schnell abnimmt. Ausserdem hat man das Präparat durch Umrandung des Hohlschliffs mit Vaseline vor Eintrocknung zu schützen.

Die Eigenbewegung beruht auf dem Besitz von Geisseln, die zu 10—18 rings um den Bacillenleib angeordnet sind. Ihre Färbung gelang zuerst Löffler mit Hilfe einer besonderen Beize. Dieselbe wird folgendermassen hergestellt: 20 Grm. (chemisch reines) Tannin löst man unter Erwärmen in 80 Ccm. dest. Wassers und setzt zu der Lösung 50 Ccm. einer kalt gesättigten wässerigen Ferrosulfatlösung und 10 Grm. konc. alkoholischer Fuchsinlösung zu. Löffler empfahl zur Färbung der Typhusgeisseln, zu der Beize noch 22 Tropfen 1%ige Natronlauge zuzufügen, doch haben Germano und Maurea, Günther, Kruse und Lösener u. a. die Zweckmässigkeit, bezw. Nothwendigkeit dieses Zusatzes nicht bestätigen können. Auch nach unseren Erfahrungen im Breslauer hygienischen Institut ist dieselbe nicht nöthig. Hingegen kommt für das Gelingen der Geisselfärbung offenbar das Alter der Kultur sehr in Betracht. Dasselbe soll 12—14 Stunden nicht überschreiten. Sodann müssen die Deckgläser peinlichst gesäubert sein. Wir nehmen diese Reinigung folgendermassen vor: Die Deckgläser werden in einer Porzellanschale in reiner Schwefelsäure etwa ½ Stunde lang gekocht. Hierauf lässt man die Säure langsam abkühlen, giesst sie ab und spült vorsichtig nach einander je dreimal mit destillirtem Wasser, mit absolutem Alkohol, mit Ammoniakalkohol, mit 60%igem und 96%igem Alkohol und zuletzt mit Aether ab. Dann werden die Gläser einzeln mittels Pincette aus dem Aether herausgenommen, auf Fliesspapier ausgebreitet und nach Verdunstung des Aethers in einer (nicht zugedeckten) Petrischale 2 Stunden im Trockenofen bei starker Hitze erwärmt. Nach dem Erkalten sind sie gebrauchsfäbig und werden sorgfältig zugedeckt aufbewahrt.

Zur Anfertigung des Präparats nimmt man 3 Deckgläser mittels Pincette aus ihrem Behälter und bringt auf 2 je 1 Tropfen Leitungswasser. Nun impft man den ersten Tropfen mit einer Spur der Reinkultur und überträgt davon 1 Platinöse voll in den 2. Tropfen und von diesem wiederum 1 Oese auf das 3., noch leere Deckgläschen. Hier vertheilt man (ohne stärkeres Verreiben!) das Tröpfchen und lässt es lufttrocken werden. Darnach wird nicht, wie im allgemeinen empfohlen wird, das Deckgläschen durch die Flamme gezogen, sondern mittels eines durch mehrmaliges Durchziehen durch die Flamme erhitzten Objectträgers fixirt, den man 1—2 Minuten in einer Entfernung von etwa 2—3 Cm. über das Deckglas hält. Nun wird die Löffler'sche Beize auffiltrirt und 2—4 Minuten auf dem Präparate belassen, sodann mittels destillirten Wassers vorsichtig abgespült und hierauf auf 3—4 Minuten in ein Schälchen mit frischem koncentrirtem Karbolfuchsin gebracht. Dann folgt wiederum Abspülen mit destillirtem Wasser, welches man nicht durch Abdrücken zwischen Fliesspapier entfernen darf, sondern von selbst ablaufen lassen muss. Die letzten Reste von Feuchtigkeit ent-

fernt man dadurch, dass man das Deckglas hoch über die Flamme hält. Hierauf Einschluss in Kanadabalsam. — Derartige Präparate bieten fast stets gute Stellen; natürlich wechseln dieselben mit anderen, nicht brauchbaren ab, weshalb eine gründliche Durchmusterung des Präparates als technische Schlussbemerkung mitangefügt werden mag.

Nicht selten, namentlich auf schwach angesäuerten Kartoffeln begegnet man in den Bacillen glänzenden, polständigen Körnern, »Polkörnern«, Plasmaansammlungen, welche die Anilinfarben intensiver aufnehmen und zwischen sich eine mehr oder weniger grosse Vakuole frei lassen, die schlecht färbbar ist. Diese Polkörner treten besonders bei Färbung mit wässeriger Methylenblau- oder Gentianaviolettlösung hervor. Die specifische Sporenfärbung versagt an ihnen, wie überhaupt, auch aus anderen Gründen, die ursprünglich angenommene Sporennatur dieser Gebilde jetzt fast allgemein aufgegeben ist.

Das mikroskopische Studium von Typhuskolonien geschieht am besten auf Gelatineplatten, welche man bei ca. 21° hält. Die nach ca. 18 bis 24 Stunden entwickelten Kolonien bieten je nach ihrer Lage ein verschiedenes Aussehen: die tiefen Kolonien sind scharfrandig, oft wetzsteinförmig, gelblich, ganz leicht granulirt; die oberflächlichen Kolonien sind durchsichtige, irisirende Häutchen, welche bei schwacher (60facher) Vergrösserung eine unregelmässige, weinblattähnliche Figur aufweisen, in welcher, meist etwas excentrisch gelagert, als dunklerer Punkt die tiefere Mutterpartie gelegen ist, und die von feinen blattrippenartigen Falten durchzogen ist. Diese Beschaffenheit junger Kolonien ist sehr charakteristisch nnd für die Diagnose fast ausschlaggebend.

Die Versuche, durch geeignete Nährböden noch charakteristischere und von den ähnlich wachsenden Coli-Arten sicher und stets unterscheidbare Kolonien zu erhalten, sind ausserordentlich zahlreich, doch bisher sämmtlich ohne den gehofften Erfolg geblieben. In letzter Zeit hat PIORKOWSKY dieses Ziel durch folgenden Nährboden zu erreichen gedacht: Durch 2tägiges Stehenlassen an der Luft alkalisch gewordener Harn vom specifischen Gewicht 1,020 wird mit $^1/_2$% Pepton und 3,3% Gelatine versetzt, eine Stunde ins kochende Wasserbad gestellt, filtrirt, in Reagensröhrchen abgefüllt und 15 Minuten in Dampf sterilisirt; am anderen Tag kommen die Röhrchen nochmals für 10 Minuten in den Dampftopf.

Auf dieser Harngelatine sollen sich die Typhuskeime nach 20—24 Stunden (bei 22° C.) stets zu faserförmigen, mit farblosen, um ein Centrum angeordneten Ranken versehenen Kolonien entwickeln, welche sich von den stets rund, gelblich, scharfrandig auswachsenden Coli-Arten ohne weiteres unterscheiden lassen sollen. Nach den Untersuchungen von PEPPLER, BISCHOF und MENZER, CLEMM u. a. ist dies jedoch nicht immer der Fall, und so bedarf auch diese Methode häufig der Unterstützung der übrigen, für den Typhusbacillus geltenden Kriterien.

Unter denselben wären hier noch die WIDAL'sche Reaktion und die PFEIFFER'sche Immunkörperreaktion zu besprechen. Da die erstere auch für andere Bakterien bedeutungsvoll geworden ist, so ist derselben ein besonderer Artikel gewidmet. Die letztere wird zweckmässiger bei dem Erreger der Cholera abgehandelt und ist dort einzusehen.

Litteratur: EBERTH (Virch. Arch. Bd. 81 u. 83 1880 u. 81), KOCH (Mitth. kais. Gesundheits. Bd. 1 1881), GAFFKY (Mitth. kais. Gesundheits. Bd. 2 1884), GÜNTHER, Einführung in das Studium der Bakteriologie, Leipzig 1895), LÖFFLER (Centr. Bakt. Bd. 7 u. 8 1890), GERMANO & MAUREA (Ziegler, Beitr. Bd. 12 1892), KRUSE (Flügge, Mikroorganismen, III. Aufl. Bd. 2), LÖSENER (Arb. kais. Gesundheits. Bd. 11), PIORKOWSKI (Berl. klin. Woch. Bd. 36 1899), PEPPLER (Inaug. Diss. Erlangen 1900), BISCHOFF & MENZER (Zeit. Hyg. Bd. 35, 1900), CLEMM (Inaug. Diss. Giessen 1900), MIGULA (System der Bakterien. Jena 1900).

Heymann, Breslau.

Acariden siehe Parasiten, thierische.

Acetaldehyd siehe Aldehyd.

Aceton, Dimethylketon, $CH_3—CO—CH_3$. Farblose, angenehm nach Pfefferminz riechende Flüssigkeit. Siedepunkt bei 56,5°. Spec. Gew. 0,81 bei 0°. Mit Wasser, Alkohol und Aether in jedem Verhältniss mischbar. Aceton ist für viele organische Stoffe (Kampher, Fette, Harze, Schiessbaumwolle etc.) ein gutes Lösungsmittel.

Nach Fischer hat das Aceton dieselben Fällungseigenschaften wie der Alkohol, d. h. es werden die folgenden Eiweisskörper aus ihren wässerigen Lösungen gefällt: Peptone, Albumosen, Albumine, Globuline, Nucleoalbumine, Hämoglobin, Nuclein und Nucleinsäuren. Die Niederschläge von Pepton, Deuteroalbumosen und Nucleinsäuren sind in Wasser löslich; die Protalbumose scheint koagulirt zu werden, was sicher mit Serumalbumin, Caseïn und Hämoglobin geschieht.

Aceton in Dampfform bei gewöhnlicher Temperatur verleiht binnen 24 Stunden und darunter in Gummi eingebetteten Präparaten gute Schnittkonsistenz (Juckuff).

Nachweis des Acetons 1. Man versetzt mit Natronlauge und Jodjodkaliumlösung. Dabei bildet sich Jodoform, das durch seinen charakteristischen Geruch nachweisbar ist, resp. beim Stehenlassen der Probe direkt ausfällt. Diese Reaktion wird auch von Alkohol, Aldehyd, Milchsäure und anderen gegeben. Weniger empfindlich, aber beweisender ist die Reaktion, wenn man alkoholische Jodlösung und Ammoniak nimmt; hierbei entsteht anfangs ein schwarzer, dann aber verschwindender Niederschlag von Jodstickstoff (Reaktion von Lieben und Modifikation von Gunning).

2. Man versetzt mit einigen Tropfen frisch bereiteter Lösung von Nitroprussidnatrium und dann mit Natronlauge: Rothfärbung, dann bei Zusatz von Essigsäure mehr Purpur- oder Karminfärbung. Diese Liegal'sche Probe wird auch von Aldehyden gegeben.

3. Mit Orthonitrobenzaldehyd und Natronlauge erfolgt Ausscheidung von Indigo, das in Chloroform übergeht (Penzoldt).

4. Eine Lösung von Quecksilberoxyd in verdünnter Schwefelsäure ruft einen weissen Niederschlag hervor, der sich mit überschüssiger Salzsäure gekocht wieder auflöst (Denigès).

5. Man versetzt 10 Ccm. der zu untersuchenden Flüssigkeit mit einem Tropfen 10%iger Hydroxylaminlösung und einem Tropfen 5%iger Natronlauge, hierauf mit einem grösseren Tropfen Pyridin. Mit Aether überschichtet, ruft hinzugesetztes Bromwasser Gelbfärbung des Aethers hervor, die bei Gegenwart von Keton und Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd in Blaufärbung übergeht. Allgemeine sehr empfindliche Reaktion auf Ketone (Stock).

Das Aceton hat in der mikroskopischen Technik bis jetzt Verwendung gefunden einmal als Fixationsmittel in Verbindung mit Sublimat. Held benutzt eine 1%ige Lösung von Sublimat in 40%igem Aceton und wäscht dann in Aceton von steigender Koncentration aus. Zum Auswaschen von Pikrinschwefelsäure aus Nervengewebe bringt Held die Stücke in Alkoholacetonlösungen von gleicher procentischer Stufe, dann in absolutes Aceton, dann durch Acetonxylol in Xylol. Juckuff und Döllken härten in Gummi eingebettete Präparate durch Acetondämpfe. Fish fixirt und entwässert die Objekte ebenfalls in Aceton und bringt sie dann zuerst in eine 4%ige, dann in eine 8%ige Lösung von Schiessbaumwolle (Pyroxylin) in Aceton. Eine ähnliche Lösung von Schiessbaumwolle in Aceton verwenden Drasch und Gallemaerts zum Aufkleben von Serienschnitten. Held verdünnt die Nissl'sche Methylenblaulösung mit gleichen Theilen 5%igen Acetons. Auch zum Entwässern von Methylenblau- und Thioninpräparaten ist das Aceton an Stelle von Alkohol empfohlen worden (Parker, Henneguy) (vergleiche auch Celloidin). Michaelis setzt eine Mischung von Aceton und Alkohol zur Methylenblau-Eosinlösung.

Litteratur: Dollken (Zeit. wiss. Mikros. Bd. 14 1897), Fish (Journ. Appl. Micr. Bd. 2, 1899). Gallemaerts (Bull. Soc. Belge Micr. Bd. 15, 1883), Held (Arch. Anat. u. Phys. Anat. Abth. 1895, derselbe ebenda 1897), Lee und Henneguy (Traité des méthodes techniques. Paris 1896), Juckuff (Arch. exp. Path. u. Pharm. Bd. 32), Parker (Zool. Anz. Bd. 15, 1892), Michaelis (Deutsch. med. Woch. 1899).

Mosse, Berlin.

Acetylen C_2H_2. Farbloses Gas von unangenehmem Geruch, das mit hell leuchtender Flamme brennt und sich bildet bei unvollkommener Verbrennung von Leuchtgas (Durchschlagen des Bunsenbrenners). Im grossen wird es dargestellt dadurch, dass man Wasser auf Kohlenstoffbaryum oder -calcium (Calciumkarbid) tropfen lässt. Es löst sich sowohl im Wasser als im Alkohol und bildet mit manchen Metalloxyden ausserordentlich explosive Körper.

Von Féran zur Kultur anaerober Bakterien empfohlen.

Litteratur: Féran (Centr. Bakt. Bd. 24, 1898.)

Achsencylinder siehe Nervenfaser.

Achromatische Substanz siehe Zellkern.

Acidophile Mischung von Ehrlich siehe Blut.

Adenoides Gewebe. Zur Untersuchung des adenoiden Gewebes in den verschiedenen lymphatischen Organen, wie Lymphdrüsen, Milz, Knochenmark, Thymus, Tonsillen etc., hat man seit den Untersuchungen von Billroth, His und Kölliker sich vor allem der sogenannten Pinselmethoden bedient. Man fertigt zu diesem Zwecke von den frischen oder durch Einlegen in indifferente Flüssigkeiten macerirten Organen, eventuell mit Hilfe des Gefriermikrotoms, Schnitte an, die man dann mit Hilfe eines Pinsels von den Lymphocyten zu befreien sucht. Der Schnitt wird in einen grossen Flüssigkeitstropfen auf den Objektträger gebracht und mit dem gut befeuchteten Pinsel gleichmässig betupft. Dabei trübt sich der Flüssigkeitstropfen durch die in ihn übergehenden körperlichen Elemente, und es muss deshalb von Zeit zu Zeit der Schnitt vorsichtig mit frischer Flüssigkeit durchgespült werden. Statt auf den Schnitt mit dem Pinsel aufzutupfen kann man auch vorsichtig den durch eine Nadel oder besser noch durch einen zweiten Pinsel festgehaltenen Schnitt mit dem feuchten Pinsel bestreichen.

Man kann auch statt des Auspinselns die Schnitte vorsichtig mit einer indifferenten Flüssigkeit schütteln (Schüttelmethode).

Um die bei diesem Vorgehen unvermeidlichen postmortalen Veränderungen des Gewebes zu umgehen, hat man auch die zu untersuchenden Organstückchen zunächst fixirt. Natürlich muss man dann eine Fixationsflüssigkeit wählen. welche das Gewebe möglichst wenig härtet. Am geeignetsten erweist sich für diesen Zweck die koncentrirte wässerige Pikrinsäure, die man auch mit dem gleichen Volum Wasser verdünnen kann. Von Lymphdrüsen, die nicht allzu lange in dieser Flüssigkeit gelegen haben, lassen sich unschwer auch mit dem Rasiermesser feine Schnitte herstellen, die man leicht auspinseln kann.

In neuerer Zeit sind jedoch diese Methoden sehr in den Hintergrund getreten gegenüber der vor allem von Mall, Hoehl und Spalteholz ausgebildeten Verdauungsmethode. (Näheres siehe dort.)

Aber auch an recht dünnen Paraffinschnitten kann man, wie Demoor gezeigt hat, schon recht gute Bilder des Reticulums erzielen. Fixation der Organstückchen am besten in Sublimat oder Flemming'scher Flüssigkeit. Ausserordentlich vortheilhaft ist es, zur Untersuchung Thiere zu verwenden. die möglichst lange gehungert haben, oder denen man innerhalb mehrerer Tage einige starke Blutentziehungen gemacht hat. Koeppe beschreibt, dass nach Unterbindung der zuführenden Lymphgefässe die Lymphzellen aus den Drüsen mehr und mehr verschwinden, die Follikel veröden und das Reticulum frei zutage liegt. Als Färbungsmethode für solche Paraffinschnitte empfiehlt sich hauptsächlich die van Gieson'sche Dreifachfärbung. Löwit fixirt die Organe 12—24 Stunden in 0,1—0,3%iger Lösung von Platin-

chlorid, 24 Stunden auswaschen, steigender Alkohol, Paraffineinbettung. Die Schnitte werden 2—4 Minuten in alkoholischem Safranin (FLEMMING) gefärbt und in Alkohol ausgewaschen, bis keine Farbstoffwolken mehr abgehen. Differenzirung in Jodpikrinalkohol: Zu 3—5 Ccm. 1%iger alkoholischer Pikrinsäure werden kurz vor dem Gebrauch 1—2 Tropfen offic. Jodtinktur gesetzt und der Schnitt 10—20 Sekunden darin belassen, dann Alkohol, Oel, Balsam. Das adenoide Gewebe, die Leukoblasten und das Hämoglobin gelb, die Kerne der Erythroblasten und die fixen Zellen dagegen leuchten roth.

Litteratur: HIS (Zeit. wiss. Zool. Bd. 10 und 11, 1861 u. 62), BILLROTH (Arch. Anat. u. Phys. 1857), MALL (Abh. Sächs. Ak. Wiss. 1890), DEMOOR (Arch. Biol. Bd. 13, 1891), KOEPPE (Arch. Physiol. 1890), LÖWIT (Arch. mikr. Anat. Bd. 38, 1891).

Adenom siehe Geschwülste.

Aderhaut siehe Sehorgan.

Aether, Aethyläther, auch Schwefeläther, Aether sulfuricus genannt, $C_2H_5—O—C_2H_5$, entsteht beim Kochen von Aethylalkohol mit Schwefelsäure. Wegen dieser Darstellungsweise schrieb man ihm früher einen Gehalt an Schwefel zu (Schwefeläther). Er bildet eine farblose Flüssigkeit von durchdringendem Geruch, die bei 17,5° ein specifisches Gewicht von 0,7185 zeigt. Aether ist bei —100° noch flüssig und siedet bei +35°. Er ist schon bei gewöhnlicher Temperatur leicht flüchtig, die schweren, zu Boden sinkenden Dämpfe bilden mit der atmosphärischen Luft explosive Gemenge. (Vorsicht!) Er entzündet sich leicht und brennt mit leuchtender Flamme. Ausser als Anästheticum dient er als vorzügliches Lösungsmittel für zahlreiche organische Substanzen, insbesondere für Oele, Harze und Fette. Anorganische Körper sind in der Regel in Aether unlöslich, ausgenommen einige Metalloide und einige Halogenverbindungen der Metalle. Mit den meisten organischen Solventien ist Aether in jedem Verhältniss mischbar, auch mit koncentrirter Salzsäure. Bei 17.5° lösen 35 Theile Aether 1 Theil Wasser und umgekehrt 12 Theile Wasser 1 Theil Aether.

Er findet vielfach als »differentes Lösungsmittel« Anwendung, da er nur von koncentrirter Schwefelsäure, Chromsäure, Salpetersäure und Platinmohr angegriffen wird.

Einen Gehalt des Aethers an Wasser entdeckt man durch Schütteln mit dem gleichen Quantum Schwefelkohlenstoff, indem Trübung erfolgt. Einen Gehalt an Alkohol erkennt man durch Schütteln mit einer Spur festen Anilinvioletts; nur alkoholhaltiger Aether nimmt dabei eine Färbung an. *Neuberg*, Berlin.

Der Aether findet in der mikroskopischen Technik, wenn wir von der Verwendung als Narkoticum absehen (siehe Artikel Narkose), eine nur beschränkte Anwendung. Am meisten noch benützt man ihn als Lösungsmittel für Fette und fettartige Substanzen. So kann er zur Lösung von Fett, auch bereits osmirten Fetts und Myelin dienen. Bekannt ist er als Lösungsmittel für Celloidin und Photoxylin in Verbindung mit Alkohol.

Als Fixationsmittel kann er für sich allein nicht dienen, wohl aber in Verbindung mit Alkohol. Eine Mischung beider zu gleichen Theilen wird vielfach und mit grossem Erfolg als Fixationsmittel für Bluttrockenpräparate verwandt.

Aetherische Oele siehe Oele, pflanzliche.

Aethylalkohol siehe Alkohol.

Aethylviolett, das Chlorhydrat des Hexaäthylpararosanilins (Ludwigshafen, GEIGY). Grünes, krystallinisches, in Wasser mit blauer Farbe

leicht lösliches Pulver. Bei Zusatz von Salzsäure färbt sich die Lösung rothgelb, mit Natronlauge entsteht ein grauvioletter Niederschlag. In Schwefelsäure löst sich der Farbstoff mit brauner Farbe.

Agar-Agar. Eine Pflanzengallerte, die aus verschiedenen in China heimischen Algen und Tangen hergestellt wird und beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure Galaktose liefert.

Der Agar hat in der bakteriologischen Technik ausgedehnte Verwendung gefunden zur Herstellung von Nährböden. Auch als Klebemittel für Paraffinschnitte eignet er sich sehr gut. Gravis lässt 1 Grm. Agar in 1 Liter destillirten Wasser quellen, kocht dann $^1/_4$ Stunde und filtrirt durch dünne Leinwand. Man legt die Schnitte auf den mit dieser Lösung bestrichenen Objektträger, streckt sie durch vorsichtiges Erwärmen und lässt den Flüssigkeitsüberschuss ablaufen. Am nächsten Tag sind die Schnitte trocken und fest.

Litteratur: Gravis (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 15, 1889).

Aggregation siehe Plasmaströmung.

Aktinien siehe Coelenteraten.

Aktinomyces. Als Erreger der Aktinomykose ist zuerst von Bollinger (1877) beim Rinde von J. Israel (1878) beim Menschen ein Mikroorganismus beschrieben worden, welcher wegen seines charakteristischen Aussehens den Namen »Strahlenpilz« (Aktinomyces) erhalten hat. Ponfick (1882) wies nach, dass der Aktinomyces hominis und Aktinomyces bovis identisch sind. Um die weitere Erforschung der Aktinomykose hat sich besonders Boström verdient gemacht.

Der Aktinomyces, von Kruse unter die Streptotricheen gezählt, wird neuerdings von Lehmann und Neumann mit anderen ihm verwandten Bacillen (Tuberkel-, Leprabacillus u. a) zu einer Gruppe »Aktinomyceten« zusammengefasst. Er ist in den pathologischen Produkten (Eiter, Gewebe) gewöhnlich in Reinkultur in Form von Drusen enthalten. Diese Drusen, meist schon makroskopisch sichtbar und in reichlicher Anzahl vorhanden, sind gewöhnlich stecknadelkopf- bis hirsekorngross; seltener werden sie grösser. Ihre Farbe ist wechselnd, weisslich bis gelblich, manchmal mit bräunlicher oder grünlicher Nuance Aeltere Herde können verkalken.

Ein solches Körnchen besteht aus einem mittleren Gerüst von Fäden. die nach der Peripherie zu in Kolben endigen. Mikroskopisch sieht man im Centrum der Druse kugelige Gebilde, die sich als rundliche Körner darstellen; sie sind aber nur die Enden der Kolben, deren fadenförmige Fortsetzung man bei der Betrachtung von oben nicht sieht.

Das innere Gerüst setzt sich zusammen aus einem Knäuel schmaler, welliger, dichotomisch ausgewachsener, durch Quertheilung segmentirter Fäden. An der Peripherie stellen sich die Fäden radiär und endigen knopfförmig oder glatt in den Kolben. Die Kolben stammen anscheinend von den Fäden selbst her, da die Fortsetzung der Membran der Fäden die Kolbenmasse einhüllt (Boström).

Zur Feststellung der Diagnose genügt es meist, die verdächtigen Knötchen, welche sich auf dunkler Unterlage leichter auffinden lassen, ungefärbt zu untersuchen. Bei schwacher Vergrösserung (90facher) sieht man das charakteristische Bild der Druse mit dem strahligen Kolben. Erschwert wird das Auffinden der Gebilde durch anhaftende Zellen und durch Verkalkungen. Zusatz von Kalilauge (30%) bei Zellen oder von unverdünnter Salzsäure bei Verkalkungen macht die Drusen sichtbar.

Die Färbung von Deckglastrockenpräparaten bietet keinen besonderen Vortheil, da in den zerquetschten Drusen das Structurbild verwischt ist,

die unzerquetschten sich nicht distinkt färben. Bei vorsichtiger Präparation (Trocknen an der Luft, vorsichtigem [dreimaligem] Durchziehen durch die Flamme) kann man aber auch an solchen Präparaten den feineren Bau studiren. Von besonderen Methoden sind folgende empfohlen. Boström: Färbung mit Anilingentiana, Entfärbung in eosin- oder pikrinsäurehaltigem Alkohol. Gram und Gram-Weigert: (beide mit Vorfärbung von Lithion- oder Pikrolithionkarmin). Baranski: 2—3 Minuten in Pikrokarminlösung. leichtes Abspülen in Wasser oder Alkohol. Untersuchung in Wasser oder Glycerin oder. nachdem das Präparat lufttrocken geworden. in Kanadabalsam(Aktinomycespilz gelb in verschiedenen Nuancen. Gewebe roth). Babes: 24 Stunden in Anilinsafranin (Ueberschuss des Farbstoffs in destillirtem Wasser, dazu 2% Anilinöl, erwärmen auf 60° C., warm filtriren), Differenzirung in Jod-Jodkali, Alkohol, Nelkenöl.

Fixirte Präparate geben bessere Strukturbilder. Ebenso wie Gewebstheile kann man auch Eiter mit den gebräuchlichen Fixations- und Härtungsflüssigkeiten behandeln.

Zum Nachweis in Schnitten genügen Doppelfärbungen mit Hämatoxylin- (Hämalaun-) Eosin (Drusen blau, Peripherie röthlich). die van Gieson'sche oder ihre Modifikation die Hansen'sche Bindegewebsfärbung (Anatom. Anz. XV. 1898, Nr. 9). Weigert: Härtung in Alkohol, Färbung 1 Stunde in Orseille (3faches, sogenanntes französisches Orseilleextrakt wird durch gelindes Erwärmen im Sandbad von überschüssigem Ammoniak befreit. In ein Gemenge von 20,0 Alcohol. abs., 5,0 Acid. acetic.. 40.0 Aq. dest. wird von dem flüssigen Extrakt soviel hineingegossen, dass eine saturirte. dunkelrothe Flüssigkeit entsteht. 1—2mal filtriren. Wedel'sche Vorschrift), oberflächliche Abspülung in Alkohol. 1%ige wässerige Lösung von Gentianaviolett, Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam — Kerne blauviolett, die innere körnige Zone der Aktinomyceshaufen verwaschen blau. zuweilen durch eine farblose Zone von den peripherischen Strahlen abgesetzt, die Strahlen selbst rubinroth. Bindegewebe orange, mit der Anwendung des Alkohols ist Vorsicht geboten, damit die rothe Farbe nicht gänzlich ausgezogen wird. Die Lösungen von Orseille dürfen nicht zu alt sein. Zur Färbung der bei dieser Methode farblos bleibenden Schicht wird Pikrokarmin empfohlen. Baranski: 2—3 Minuten oder länger in Pikrokarmin. Abspülung in Wasser, Untersuchung in Wasser oder Glycerin oder nach Entwässerung mit Alkohol - Einschluss in Kanadabalsam (Pilzrasen gelb, Umgebung roth). J. Israel: Gesättigte wässerige Orceïnlösung. welche mit Essigsäure angesäuert wird: Färbung darin. bis die Schnitte eine dunkelbordeauxrothe Farbe annehmen, Differenzirung in Alkohol bis zur völligen Entfärbung des umgebenden Gewebes. schnelles Uebertragen der Schnitte auf den Objektträger, durch kräftiges Aufdrücken auf dickes Fliesspapier wird der Alkohol entfernt, der Schnitt dadurch am Objektträger festgeklebt: nach mässiger Eintrocknung des Schnittes an der Luft Einbettung in eingedicktes Cedernöl (Keulen des Pilzes roth. Mitte des Mycels mehr oder weniger blau).

Ferner sind für Schnittfärbungen zur Darstellung der Kolben empfohlen von Marchand Eosin. von Duncker Cochenilleroth. von Hanau Säurefuchsin. von Hewlett: Färbung ½ Stunde lang in Ehrlich-Biondi'scher Lösung. Entfärbung in Alkohol. bis die Schnitte bräunlich geworden sind. Aufhellung. Einschluss. Angegeben ist ferner von Koppstein die Gabbet'sche Methode der Tuberkelbacillenfärbung: von Berestnew für junge A.-Kolben die Ziehl-sche Lösung: von Sata die Färbung mit Sudan III. welches die A.-Rasen infolge ihres Fettgehalts im Schnitt gut färbt: Fixirung in Formollösung. Abspülung in Wasser. Gefriermikrotomschnitte. schwache Hämatoxylinfärbung. einige Minuten in Spiritus. 12—24 Stunden in eine gesättigte alkoholische (96%ige) Lösung von Sudan III. Abspülen in Spiritus. Einschluss in Glycerin — Rasen orange- oder hellroth. Gewebe ohne Fett blau gefärbt.

Alle bisher angeführten Methoden lassen öfter im Stich oder enthüllen nicht die Feinheiten der Structur. Das Beste leisten folgende Färbungen:

GRAM: genaue Befolgung der Vorschrift ist nothwendig. Vorfärbung mit Lithion- oder Pikrolithionkarmin. Gute Darstellung des centralen Fadenwerkes.

WEIGERT: ebenfalls genaue Befolgung der Vorschrift. Vorfärbung wie bei GRAM.

Modifikationen dieser beiden Methoden nach GÜNTHER und KÜHNE.

BOSTRÖM: Anilinwassergentianaviolett. direktes Uebertragen ohne Abwaschen in WEIGERT'sches Pikrokarmin. gründliches Abspülen in Wasser. absoluter Alkohol bis die Schnitte rothgelb gefärbt sind. Aufhellung, Einbettung — centrales Fadengerüst blau. Keulen roth. umliegendes Gewebe rothgelb.

SCHLEGEL: Schnitte in starker alkoholischer Eosinlösung während 4 bis 5 Stunden im Thermostaten. kurzes Abspülen mit 96%igem Alkohol, 10 Minuten in gewöhnliche Hämatoxylinlösung, Schnitte nicht zu stark auswaschen, noch zu langsam auf den Objektträger auflegen. damit nicht die Keulen Zeit gewinnen, zuviel Farbe (Eosin) abzugeben — Kolben intensiv roth. Gewebe in bekannter Doppelfärbung.

Das Kulturverfahren ist zur Diagnose nicht nothwendig. da sich die Kolonien oft nicht oder erst in einigen (5—6) Tagen deutlich entwickeln. Der Pilz wächst aërob und anaërob (nach BOSTRÖM aërob besser) auf den gebräuchlichen Nährböden. Zu beachten ist. dass man frisches Material möglichst keimfrei überträgt und sehr viel Kulturen anlegt (50—80 nach BOSTRÖM). LEHMANN und NEUMANN empfehlen als besten Nährboden Serum- und Ascitesagar.

Litteratur: BABES (VIRCH. Arch., Bd. 105, 1886), BARANSKI (Deutsch. med. Woch., 1887), BERESTNEW (Zeit. Hyg., Bd. 29, 1898), BOLLINGER (Deutsch. Zeit. Thiermed., Bd. 3, 1877 u. Centr. med. Wiss, Bd. 15, 1877), BOSTRÖM (Berl. klin. Woch., 1885, Beitr. path. Anat., 1890 u. IV. Congr. f. innere Medicin, 1885), DUNCKER (Zeit. Mikr. Fleischb., H. 3, 1884), HANAU (Corresp. Schweiz. Aerzte, 1889). HEWLETT (Lancet, 1894, ref. Centr. Bakt., Bd. 16, 1894), ISRAEL (VIRCH Arch, Bd. 74, 78 u. 105, 1878, 79 u. 86), ISRAEL u. WOLFF (VIRCH. Arch., Bd. 126, 1891), KOPFSTEIN (Centr. Bakt., Bd. 12, 1890, Referat), KRUSE (in FLÜGGE, Die Mikroorganismen, Bd. 2, Leipzig 1896), LEHMANN u. NEUMANN (Atlas u. Grundriss der Bakteriologie, II. Aufl., München 1899), MARCHAND (Real-Encyclopädie der gesammten Heilkunde), PONFICK (Die Aktinomykose des Menschen, Fest. VIRCHOW, Berlin 1882), SATA (Centr. path. Anat, 1900), SCHLEGEL (LUBARSCH-OSTERTAG, 5. Jahrg., 1898), WEIGERT (VIRCH. Arch., Bd. 84, 1881).

Klingmüller, Breslau.

Aktinomyces siehe auch Strahlenpilz.

Aktives Albumin siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle.

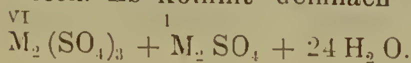
Aktol, Argentum lacticum. Weisse nadelförmige Krystalle, die 1 : 15 in Wasser und in kaltem Alkohol wenig löslich sind. Es findet in der praktischen Medicin vielfach Verwendung.

Von GUDDEN an Stelle von Höllenstein bei der GOLGI'schen Methode verwendet.

Litteratur: GUDDEN (Neurol. Centr., 20. Jahrg., 1901).

Mosse, Berlin.

Alaune. Unter Alaunen versteht man eine Reihe wasserhaltiger Doppelsalze, die analog dem Doppelsalz von Aluminium- und Kaliumsulfat zusammengesetzt sind, d. h. analog der Formel $Al_2 (SO_4)_3 + K_2 SO_4 + 24 H_2 O$. Diese Doppelsalze krystallisiren in Oktaedern oder Würfeln. In der eben genannten Formel kann nun das Aluminium durch ein anderes sechswerthiges Metall ersetzt werden, durch Eisen, Mangan und Chrom. Ebenso kann an Stelle des Kalium Natrium, Ammonium, Caesium, Rubidium und Thallium treten. Es kommt demnach diesen Doppelsalzen die allgemeine Formel zu



$$\overset{VI}{M}_2 (SO_4)_3 + \overset{I}{M}_2 SO_4 + 24 H_2 O.$$

Hierzu ist noch zu bemerken, dass ebenso wie die Sulfate auch die Seleniate entsprechende Verbindungen bilden können und dass auch die Doppelsalze aus Aluminiumsulfat und den Sulfaten von Eisenoxydul, Manganoxydul, Zink und Magnesium ihrer Zusammensetzung, nicht aber ihrer Krystallform nach hierher gehören.

Was nun die etwas verwickelte Nomenklatur der Alaune anlangt, so dürfte Folgendes von Wichtigkeit sein:

1. Wenn von einem Alaun ohne weiteren Zusatz die Rede ist, so meint man stets einen Aluminiumalaun. Natriumalaun ist also Natriumaluminiumalaun, Kaliumalaun also Kaliumaluminiumalaun etc. Dieses letztere Salz, der Kaliumalaun, ist nun der Alaun κατ' ἐξοχήν. Unter Alaun ist also, wenn nichts anderes hinzugefügt ist, immer Kaliumalaun zu verstehen.

2. Dagegen versteht man unter Eisen-, Mangan-, Chromalaun die Doppelverbindungen mit Kaliumsulfat. Eisenalaun ist also Eisenkaliumalaun, Chromalaun ist Chromkaliumalaun. Wird Kalium aber durch ein anderes Metall ersetzt, so werden beide Metalle genannt, z. B. Eisenammoniumalaun.

Weiterhin sind die Bezeichnungen »neutraler« und »basischer« Alaun im Gebrauch. Unter einem neutralen Alaun versteht man diejenige neutral reagirende Lösung, die man erhält, wenn man zu einer wässerigen Alaunlösung vorsichtig Alkali zufügt, so dass ein gerade entstehendor Niederschlag wieder in Lösung geht. Setzt man mehr Alkali zu, so löst sich dieser Niederschlag nicht mehr und man spricht dann von einem basischen Alaun. Der neutrale Alaun wird in der Färberei benutzt, er bildet mit organischen Farbstoffen Lacke.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen soll zur Charakteristik der einzelnen für die mikroskopische Technik wichtigen Alaune übergegangen werden.

Kaliumalaun, der »Alaun« schlechtweg, $Al_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 24 H_2O$ vom spec. Gew. 1,92, bildet durchsichtige, regelmässige Oktaeder. Er ist in Wasser leicht löslich, und zwar lösen sich bei 0° 3,9%, bei 10° 9,5%, bei 20° 15,1%, bei 50° 44,1% und bei 100° 367,5%. In absolutem Alkohol und in Aether ist er unlöslich, in Glycerin lösen sich 40%.

Natriumalaun $Al_2(SO_4)_3 + Na_2SO_4 + 24 H_2O$ vom spec. Gew. 1,6 ist in Wasser leichter löslich als der Kalium- und Ammoniumalaun. Er verwittert an der Luft.

Ammoniumalaun, $Al_2(SO_4)_3 + (NH_4)_2SO_4 + 24 H_2O$, vom spec. Gew. 1,6. In Wasser lösen sich bei 0° 5,2%, bei 10° 9,1%, bei 20° 13,6%, bei 50° 36,5% und bei 100° 422%. In seinen Eigenschaften gleicht er den beiden vorigen.

Ebenso gleichen Rubidium- und Caesiumalaun in Form und Verhalten dem Kaliumalaun. Sie unterscheiden sich von ihm durch ihre schwerere Löslichkeit in Wasser, indem sich bei 17° Rubidiumalaun nur etwa 2,2%, Caesiumalaun sogar nur 0,6% lösen.

Eisenalaun. Kaliumeisenalaun, $Fe_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 24 H_2O$ ist ein hellviolettes, Oktaeder bildendes, in 5 Theilen kalten Wassers lösliches Salz. In der mikroskopischen Technik wird dagegen unter Eisenalaun der Ammoniumeisenalaun verstanden, schwefelsaures Eisenoxydammonium, $Fe_2(SO_4)_3 + (NH_4)_2SO_4 + 24 H_2O$. Dieses Salz, das aus der gemischten Lösung von schwefelsaurem Ammoniak und neutralem schwefelsaurem Eisenoxyd in der Regel in violett-rosa gefärbten, seltener in farblosen Oktaedern und Würfeloktaedern krystallisirt, hat das spec. Gew. 1,71 und löst sich etwa in 3 Theilen Wasser von 15°. Es verwittert ziemlich leicht an der Luft und nimmt dann eine mehr gelbliche Farbo an.

Chromalaun $K_2SO_4 + Cr_2(SO_4)_3 + 24 H_2O$, bildet grosse violette Oktaeder, die sich in 7 Theilen Wasser mit blauvioletter Farbe lösen. Beim

Erhitzen der wässerigen Lösung über 70° tritt dunkelgrüne Verfärbung ein, nach längerem Stehen jedoch wieder die blauviolette Farbe. *Mosse,* Berlin.

Die hohe Bedeutung des Alauns für die mikroskopische Technik beruht vor allem auf der Eigenschaft des Aluminiums, mit Karminsäure und mit Hämateïn Verbindungen von hoher Färbekraft einzugehen, die man als karminsaure Thonerde oder Hämateïn-Thonerde bezeichnet. Diese in Wasser unlöslichen Verbindungen sind in Alaun leicht löslich, und so kommt es, dass Alaunlösung gleichzeitig auch wieder als Differenzirungsmittel dienen kann.

Das, was für den Alaun gilt, gilt auch der Hauptsache nach für den Chrom- und den Eisenalaun, nur dass hier die Rolle des Aluminiums von dem Chrom, resp. dem Eisen übernommen wird. Näheres hierüber siehe in den Artikeln: Färbung, Karmin, Hämatoxylin.

Aber auch für andere Farbstoffe ist der Alaun ein bequemes Lösungsmittel, so für Purpurin, Brasilin, Indoinblau, Methylenblau, Galleïn etc., und spielt für manche derselben vielleicht eine ähnliche Rolle wie für Karmin und Hämatoxylin.

Im übrigen ist die Verwendung des Alauns in der mikroskopischen Technik nur eine beschränkte, so wird er manchen Fixationsmitteln als Quellung verhinderndes Mittel zugesetzt, z. B. der Salpetersäure, oder er dient zum Auswaschen stark saurer Entkalkungsmittel, wo Wasser Quellung hervorrufen würde.

Alauncochenille siehe Cochenille.

Alaunkarmin siehe Karmin.

Aldehyd, Acetaldehyd, CH_3—COH, ist eine farblose, unangenehm riechende Flüssigkeit vom spec. Gew. 0,7876 bei 16° und neutraler Reaktion. Er muss luftdicht verschlossen aufbewahrt werden, da er sich sonst bald zu Essigsäure oxydirt. Mit Wasser, Alkohol und Aether mischt er sich in jedem Verhältniss. Siedepunkt 21°. Er ist ein ausserordentlich reaktionsfähiger Körper, der stark reducirend wirkt; Aetzalkalien zersetzen ihn, oxydirend wirkende Körper führen ihn in Essigsäure über.

Aehnlich wie den Formaldehyd hat man auch den Acetaldehyd an Stelle von Osmiumsäure bei der Golgimethode verwandt. Die Stücke kommen für 15—20 Tage in ein Gemisch von 1 Theil Aldehyd und 100 Theilen 3—4%igen Bichromat.

Litteratur: Vassale und Donaggio (Riv. sper. fren. e Med. leg. Reggio Emilia, Bd. 21, 1895).

Aldehyde in Pflanzenmembranen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Aldehydgrün, syn. Anilingrün, Vert d'Usèbe, von Lauth zuerst dargestellt durch Einwirkung von Acetaldehyd auf Rosanilin und Sulfurirung des entstehenden violetten Farbkörpers. Amorphes grünes Pulver, das in Wasser unlöslich, in Alkohol wenig löslich, leichter dagegen in schwefelsäurehaltigem Alkohol ist. Durch Salzsäure, Natronlauge und Chlorkalk wird die Lösung entfärbt. Früher in der Färberei viel benutzt. Das Pulver wurde mit der zwanzigfachen Menge Wasser zu einem Brei verrieben, dann mit der doppelten Menge konc. Schwefelsäure versetzt und in der 50—70fachen Menge Alkohol gelöst. Färbt Seide und Wolle direkt.

Das Anilingrün ist verschiedentlich in der mikroskopischen Technik zur Anwendung gelangt und von Schiefferdecker und H. List als Schleimfärbungsmittel gerühmt worden, doch muss es sich hier um einen ganz anderen Farbstoff, wahrscheinlich um Methylgrün gehandelt haben, da derselbe in Wasser löslich war.

Litteratur: Schiefferdecker (Arch. mikr. Anat., Bd. 23 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), List (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885).

Aleuronkörner bei Pflanzen siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle.

Algen, Kultur der. Eine dauernde sichere Kultur chlorophyllgrüner Algen (Konjugaten und Chlorophycaeen) lässt sich nur innerhalb eines grösseren Aquariums (30—40 Liter Inhalt) bewerkstelligen, das, an die Wasserleitung angeschlossen, dauernd von einem langsamen Strom frischen Wassers durchflossen wird. Viele Formen halten sich aber auch sehr lange und gedeihen üppig in viel kleineren Gefässen (grossen Farbschalen u. dgl.), doch ist es dann meist nothwendig, ihnen Nährstoffe zuzuführen, am besten 0,2—0,5% Salz. Knop'sche Nährlösung: 4 Theile salpetersaurer Kalk, 1 Theil schwefelsaures Magnesium, 1 Theil salpetersaures Kali, 1 Theil phosphorsaures Kali, letztere drei um Niederschläge zu vermeiden, erst in der nothwendigen Verdünnung zugesetzt. Der Boden des Gefässes wird mit einer fingerdicken Schicht Flusssand bedeckt, die Gefässe in ein kühles Nordzimmer ans Fenster gestellt; intensives Sonnenlicht ist jedenfalls zu vermeiden. Letzteres gilt besonders auch von den höheren grünen Algen, den Characaeen. Chara und Nitella* (siehe Plasmaströmung) hält sich sehr gut und vermehrt sich in grösseren Einmachgläsern. Reinkulturen, die ganz entsprechend dem bakteriologischen Verfahren sterilisirt hergestellt werden, können auch auf mit Nährlösung (s. o.) gesättigten $^1/_2$%igen Agaragarboden mit Erfolg kultivirt werden.

Litteratur: G. Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Pilzen und Algen. 1896, Engelmann, Leipzig. Ueber Kultur in Farblösung vergl. Zellmembran, pflanzliche 2. Membranwachsthum, pag. 14. Ueber die Kultur von Meeresalgen vergl. Holl, Flora, 1832, pag. 281. *Magnus,* Berlin.

Alizarin, Dioxyanthrachinon, $C_6H_4 \begin{matrix} CO \\ CO \end{matrix} C_6H_2(OH_2)$, findet sich neben Purpurin in der Wurzel von Rubia tinctorum, dem sogen. Krapp, in Form eines Glykosids, der Ruberythrinsäure und wird durch Extraktion mittels Alaunlösung aus dem Krapp gewonnen. Es bildet rothbraune, in Wasser unlösliche, in Alkohol wenig lösliche Krystallnadeln. In Alkalilauge ist es mit violetter Farbe löslich, mit Chrom, Alaun, Eisen bildet es charakteristisch gefärbte Lacke. Früher hatte es in der Färberei zur Erzeugung des Türkischroth eine grosse Bedeutung, heute ist es durch das von Graebe und Liebermann zuerst dargestellte künstliche Alizarin fast völlig verdrängt.

Für die mikroskopische Technik ist es durch die Knochenwachsthumsuntersuchungen mittels Krappfütterung, angestellt von Lieberkühn und Kölliker, von Bedeutung geworden. Auch zur Färbung des Centralnervensystems ist es von Benczur in alkoholischer Lösung gerühmt worden.

Alizarine, künstliche, Anthrachinonfarbstoffe, welche durch Schmelzen von anthrachinondisulfosaurem Natrium mit Aetznatron und chlorsaurem Kalium entstehen. Sie kommen in den Handel in Form von braungelben, in Wasser unlöslichen, in Alkohol, Aether, Benzol, Glycerin löslichen Pasten. In Schwefelsäure lösen sie sich mit rothbrauner, in Natronlauge mit blauvioletter Farbe.

Behandelt man Alizarin vorsichtig mit rauchender Schwefelsäure, so entsteht die Alizarinsulfosäure (Alizarin S).

Das künstliche Alizarin wird in der praktischen Färberei ausserordentlich stark benutzt, und zwar so, dass man das zu färbende Material vorher mit einem Metalloxyde imprägnirt, vor allem mit Thonerde und Eisenoxyd. Man erzielt dann in der zum Kochen erhitzten wässerigen Alizarinaufschwemmung sehr haltbare und schöne rothe, resp. violette Färbungen.

---

* Sie ist erhältlich, wenn nicht im Freien, aus botanischen Instituten, z. B. momentan Leipzig, Professor Pfeffer.

In der mikroskopischen Färberei hat das Alizarin nur geringen Anklang gefunden. RAWITZ benutzt zur Färbung von Material aus Flemming, Chromsäure oder Chrompikrinsalpetersäure eine 5%ige wässerige Aufschwemmung von Alizarin 1 (Höchst), die er vor dem Gebrauche mit dem gleichen, bei Chrompräparaten mit dem 6—10fachen Volum Wasser verdünnt. Vor der Färbung müssen die Schnitte 24 Stunden lang gebeizt werden. Als Beize benutzt er chromsaures Chromoxyd, das unter der Marke Chrombeize G. A. 1 (Höchst) in der technischen Färberei Verwendung findet. Dieselbe wird mit dem 6—30fachen Volum destillirten Wassers verdünnt. Nach der Beizung werden die Schnitte so lange in destillirtem Wasser ausgewaschen, bis das Wasser farblos bleibt und dann 24—28 Stunden bei Bruttemperatur gefärbt. Der Farblösung werden vor dem Gebrauch eiuige Tropfen einer 1%igen Lösung von essigsaurem Calcium zugesetzt. Nach der Färbung $^1/_2$—1 Stunde in destillirtem Wasser auswaschen, mehrere Stunden in 96%igem Alkohol, Bergamottöl, Kanadabalsam. Zellsubstanz hellorange, Attraktionssphären dunkelorange, Centrosomen röthlich braun.

Litteratur: RAWITZ (Anat. Anz., Bd. 11, 1895).

Alizarinsulfosaures Natrium. Behandelt man Alizarin mit rauchender Schwefelsäure bei niederer Temperatur, so entsteht die Alizarinsulfosäure, aus der man durch Sättigen mit Soda das alizarinsulfosaure Natrium in Form eines orangegelben, in Wasser und Alkohol leicht löslichen Pulvers erhält. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure hellgelb. mit Natronlauge violett.

Von BENDA in seiner Methode der Neuroglia- und Mitochondrienfärbung benutzt (siehe dort).

Alizarinblau R. Dioxyanthrachinonchinolin (Elberfeld), syn. Alizarinblau in Teig (Ludwigshafen); dunkelblaue oder violette Krystallnadeln. die in Wasser unlöslich, in Alkohol, Aether und Benzol wenig löslich sind. In Säuren mit rother, in Alkalien mit blauer Farbe löslich. In der Technik zur Blaufärbung mittels Chrombeize benutzt.

Alizarinblau S entsteht durch Einwirkung von Natriumbisulfit auf das vorige (Ludwigshafen). In Wasser löslich, in Alkohol unlöslich. In Säuren mit gelber, in Alkalien mit violetter Farbe löslich.

Alizarinorange, β-Nitroalizarin, entweder braungelbe Paste, Alizarinorange in Teig (Ludwigshafen) oder gelbes Pulver, Alizarinorange-Pulver (Höchst). In Wasser unlöslich, in Alkalien mit rother, in Säuren mit gelbbrauner Farbe löslich. In der technischen Färberei zur Färbung von Wolle und Baumwolle mittels Thonerde- (orange) oder Eisen- (rothviolett) oder Chrombeize (braun) benutzt.

Alizarincyanin 3 R, erhalten durch Oxydation von Alizarinbordeaux in schwefelsaurer Lösung (Elberfeld). Dunkelbraune, in Wasser unlösliche, in Alkohol lösliche Paste. In Schwefelsäure und Natronlauge mit blauer Farbe löslich.

RAWITZ färbt in einer 5%igen wässerigen Aufschwemmung, der vor dem Gebrauch einige Tropfen einer 1%igen Lösung von essigsaurem Calcium zugesetzt sind. Schnitte 24 Stunden im Brutschrank, nachdem sie vorher 24 Stunden mit Liquor ferri sulfurici oxydati gebeizt sind. Nach der Beizung und nach der Färbung wird in Wasser abgespült; der überschüssige, nicht durch die Beize gebundene Farbstoff wird in 96%igem Alkohol ausgezogen, dann Bergamottöl und Balsam.

Alkaliblau entsteht durch Behandlung von Anilinblau mit Schwefelsäure und stellt ein Gemenge von Natriumsalzen der Triphenylrosanilinmonosulfosäure und der Triphenylpararosanilinmonosulfosäure dar (Berlin, Elberfeld, Ludwigshafen). Blaues, in Wasser leichter als in Alkohol lösliches Pulver,

mit Natronlauge färbt sich die Lösung rothbraun, mit Salzsäure entsteht ein blauer Niederschlag. In Schwefelsäure löst sich der Farbstoff mit rothbrauner Farbe.

Alkaligrün, syn. Viridin. Erhalten durch Oxydation der Sulfosäuren des Benzyldiphenylamin mittels Kaliumbichromat. Der Farbstoff kommt als Alkalisalz dieser Säuren in den Handel. Dunkelgrünes, bronzefarbenes Pulver, in Wasser und Alkohol löslich.

Alkaloide, pflanzliche. Die mannigfache chemische Konstitution der in Pflanzen vielfach vorkommenden meist sauerstoffhaltigen (ausser dem flüchtigen Piperidin, Coniin, Nikotin,* Sparteïn), stickstoffhaltigen organischen Basen, Alkaloide lässt keine allgemein giltige Reaktion zu, während die Alkaloide physiologisch, höchst wahrscheinlich als Abbauprodukte des Eiweiss, durch ihre Giftigkeit gut charakterisirt sind. Als beste Gruppenreaktion hauptsächlich für die Pyridinreihe gelten Phosphormolybdänsäure, farbloser bis grüngelber Niederschlag, Kaliumwismuthjodid, brauner Niederschlag, Pikrinsäure gelber Niederschlag (BEILSTEIN). Soll beim mikrochemischen Nachweis das Alkaloid in der Zelle selbst zur Darstellung gebracht werden, so darf nur frisches Material verwendet werden, da das Alkaloid beim Trocknen der Pflanze leicht wandert. Jodjodkalium giebt einen sehr charakteristischen rothbraunen Niederschlag, doch gehört einige Aufmerksamkeit dazu, ihn zumal im Assimilationsgewebe zwischen den gleichfalls mehr oder weniger gebräunten Chlorophyll- und Stärkekörnern, Plasma und Zellkern zu erkennen. Die Fällung ist dauernd (bald verschwindend nur bei Nikotin). Da auch andere, zumal Eiweissstoffe, siehe Eiweiss, durch Jodjodkalium gefällt werden, müssen aus Schnitten die Alkaloide in durch Weinsäure angesäuertem Alkohol (1 : 20) ausgezogen werden (2—24 Stunden) und dürfen die Schnitte dann keine Reaktion mehr geben (CLAUTRIAN). In gewissen Fällen geben Jod- und Bromdämpfe auf Schnitte gute Reaktionen (BARTH). Für viele Alkaloide existiren oft scharf charakterisirte Specialfarbreaktionen, z. B. mit koncentrirter Tellur-, Selen-, Vanadin-, Schwefelsäure u. s. w., deren mikrochemische Verwendbarkeit jedoch im Einzelfalle eingehender Prüfung zu bedürfen scheint, jedenfalls hinter den obigen fällenden Reagentien erheblich zurückstehen. (Vergl. Zusammenstellung der verschiedenen Farbenreaktionen bei F. NICKEL, ZIMMERMANN, dort Litteratur, und BEHRENS.) Für viele Alkaloide der Purinreihe ist eine mikrochemische Lokalisation nicht gelungen. Kleine Mengen Theobromins und Coffeïns werden nachgewiesen, indem man die Schnitte für 1 Minute in koncentrirte Salzsäure legt, zu der dann eine 3%ige Goldchloridlösung gefügt wird. Nach einiger Zeit schiessen am Rande des Deckglases die Krystalle auf (MOHLISCH). Man kann auch kleinere Pflanzentheile mit etwas Kohle kochen, das Alkaloid sublimiren und mit Silbernitrat in schwach salpetersaurer Lösung als Krystalle abscheiden (BEHRENS 1897).

Litteratur: BEILSTEIN (Handbuch der organischen Chemie, III. Aufl.), PICTET (La constitution chimique des alcaloides végétaux, II. Aufl., Paris 1897), FISCHER (Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. 22, 1899), CLAUTRIAN (Annal. Soc. roy. Sc. méd. nat. Bruxelles, Bd. 9, 2. 1900), BARTH (Bot. Centr. Bd. 75, 1898), NICKEL (Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen, Berlin 1890), ZIMMERMANN (Bot. Mikrotechnik, Tübingen 1892), BEHRENS (Tabellen), MOHLISCH (Grundriss der Histochemie der pflanzlichen Genussmittel, Jena 1891), BEHRENS (Anleitung zur mikrochemischen Analyse der wichtigsten organischen Verbindungen, Heft 4, 1897).

Magnus, Berlin.

Alkanna. Es kommen unter dem Namen Alkanna zwei verschiedene Drogen im Handel vor, die Wurzel von Lawsonia alba Lam. und von Anchusa

* Stickstoff kann cyklisch nicht gebunden sein, so bei Cholin, Betaïn, Muscarin, Colchicin, oder gebunden einerseits zur Pyridinreihe gehören, Alkaloide im engeren Sinne wie Coniin, Piperin, Nikotin, Pilokarpin, Sparteïn, Atropin, Cocaïn, Strychnin, Brucin, Chininalkaloide, anderseits zur Puringruppe wie Xanthin, Theobromin, Coffeïn, Guanin (PICTET, FISCHER).

tinctoria L. Die letztere, die hauptsächlich aus Spanien, Griechenland und Südfrankreich kommt, wird mit Petroleumäther extrahirt, der letztere abdestillirt, und man erhält so ein dickflüssiges, rothes Extrakt, welches in der Technik vielfach zum Färben von Oelen und Fetten benutzt wird. LIEBERMANN und RÖMER haben aus diesem käuflichen Produkt ein reines Alkannin dargestellt und dafür die Formel $C_{15}H_{14}O_4$ berechnet. Es ist in Wasser unlöslich, etwas löslich in Alkohol, Aether, Benzol und fetten Oelen, leichter in Chloroform oder Eisessig. Von Alkalien werden die rothen Krusten leicht mit blauer Farbe gelöst. Mit den verschiedenen Metallsalzen erhält man aus alkoholischer Alkannalösung verschiedenfarbige Lacke von inkonstanter Zusammensetzung. Nach LIEBERMANN und RÖMER ist das Alkannin als Dioxymethylantrachinon anzusehen.

In der mikroskopischen Technik hat die Alkanna hauptsächlich eine Rolle als Fettfärbungsmittel gespielt (siehe dort). Ausserdem ist sie zum Färben von Paraffin benutzt worden. SAMTER durchtränkt sehr kleine Objekte, um sie im ungefärbten Paraffinblock aufzufinden, in solchem Alkannaparaffin.

Litteratur: SAMTER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894).

Ueber die Darstellung der Alkannatinktur vergl. Oele, pflanzliche.

Alkohole. Mit dem Namen »Alkohole« oder »Carbinole« bezeichnet man alle diejenigen Derivate der Kohlenwasserstoffe, in denen ein oder mehrere Wasserstoffatome durch den Rest OH, die Hydroxylgruppe, ersetzt sind.

Verbindungen, die einmal die Hydroxylgruppe enthalten, bezeichnet man als »einwerthige Alkohole«, z. B. $CH_3\,CH_2\,OH$ oder Aethylalkohol; solche, die zwei OH-Reste enthalten, als »zweiwerthige Alkohole«, z. B. $CH_2(OH)—CH_2(OH)$ (Aethylenalkohol), solche mit drei Hydroxylgruppen als »dreiwerthige Alkohole«, z. B. $CH_2.(OH)—CH(OH)—CH_2(OH)$ oder Glycerin u. s. w.

Scharf von dieser Eintheilung zu trennen ist die Unterscheidung der Alkohole als primäre, sekundäre und tertiäre. Diese will nichts über die Zahl der vorhandenen Hydroxylgruppen aussagen, sondern charakterisirt die Stellung der Hydroxylgruppe zu den Kohlenstoffatomen.

Alkohole, deren Hydroxyl in eine Methylgruppe ($—CH_3$) eingetreten ist, heissen primäre Alkohole; sie enthalten demnach die Atomgruppierung: $—CH_2.OH$, die bei der Oxydation in die sogenannte Carboxylgruppe —COOH übergeht.

Sekundäre Alkohole sind solche, deren Hydroxylgruppe in eine Methylengruppe ($>CH_2$) eingetreten ist. Sie besitzen die Atomanordnung $>CH.OH$, die bei der Oxydation in die Ketogruppe $>CO$ verwandelt wird.

Tertiäre Alkohole endlich enthalten die Atomanordnung $\geq C.OH$, die aus der Methingruppe $\geq CH$ entstanden ist und durch Oxydation nicht weiter verändert werden kann.

Den Alkoholen eigenthümlich ist eine gewisse chemische Indifferenz. Sie sind neutrale Körper, die weder basisch noch sauer reagiren. Diese Zwitterstellung befähigt sie aber, gelegentlich basischen oder sauren Charakter anzunehmen. Ersteres erfolgt bei ihrer Vereinigung mit Säuren zu den sogenannten Estern, letzteres tritt in der Möglichkeit zutage, durch Ersatz eines Wasserstoffatoms mit Metallen, so mit Kalium und Natrium, gelegentlich auch mit Zink und Aluminium, zusammenzutreten.

Dieser Vorgang ist der Salzbildung einer Säure vergleichbar und kommt durch die Reaktionsfähigkeit des Wasserstoffatoms in der Hydroxylgruppe, des sogenannten typischen H-Atoms, zustande.

Die Alkohole einer homologen Reihe zeigen mit zunehmendem Molekulargewicht gradatim eine Aenderung ihrer physikalischen Konstanten.

Die niederen Alkohole sind flüchtige, leicht bewegliche Flüssigkeiten von angenehmem charakteristischen Geruch. Die mittleren Glieder, etwa von C_4 an, sind ölig, und von C_7 an werden die Alkohole fest und fettähnlich.

Bei der Erhöhung des Molekulargewichtes steigt auch der Siedepunkt. und zwar bei normaler Kohlenstoffkette um circa 19° für die Differenz CH_2. Die höheren Glieder der Alkoholreihe sieden nur im Vakuum unzersetzt.

Die Anfangsglieder der Reihe, Methyl-, Aethyl- und Propylalkohol sind mit Wasser in jedem Verhältniss mischbar, bei den höheren nimmt die Löslichkeit im Wasser bald ab; so ist der Amylalkohol ($C_5H_{11}.OH$) erst in 40 Theilen Wasser löslich, während die noch höheren fettähnlichen Glieder ganz unlöslich sind.

Bemerkenswerth ist die Fähigkeit der Alkohole, aus ihren Lösungen durch Pottasche oder Chlorcalcium abgeschieden oder »ausgesalzen« zu werden.

Das specifische Gewicht sämmtlicher Alkohole ist geringer als das des Wassers, also < 1.

Ein in manchen Punkten abweichendes Verhalten zeigen die Alkohole der Benzolreihe, die sogenannten Phenole (siehe diese). *Neuberg*, Berlin.

Alkohol, Aethylalkohol, Weingeist oder Spiritus genannt. C_2H_5OH. wird seit altersher durch den Process der Gährung aus verschiedenen Kohlehydraten, namentlich aus Traubenzucker und Invertzucker gewonnen. Dieser Vorgang ist früher als eine Lebensthätigkeit der Gährungserreger aufgefasst worden, nach E. BUCHNER's Untersuchungen der letzten Jahre aber auf ein in der Hefe enthaltenes Ferment, die Zymase, zurückzuführen, das von den lebenden Zellen getrennt werden kann. Die durch die Zymase bewirkte Zerlegung des Zuckers wird gewöhnlich durch die Gleichung $C_6H_{12}O_6 = 2\,CO_2 + 2\,C_2H_5OH$ ausgedrückt, doch trägt dieselbe nicht der Bildung von Nebenprodukten, höheren Alkoholen, Bernsteinsäure, Glycerin etc. Rechnung.

Bei der Verarbeitung der vergohrenen Flüssigkeiten (Maische) erhält man zunächst einen wasserhaltigen Alkohol (Sprit), der durch Destillation über wasserentziehenden Mitteln (kohlensaures Kali, geglühtes Kupfersulfat. Baryumoxyd oder gebrannter Kalk) in »absoluten« (wasserfreien) Alkohol verwandelt wird.

Letzterer bildet eine wasserklare Flüssigkeit von angenehmem und zugleich berauschendem Geruch; sie erstarrt bei —130° zu einer schneeähnlichen Masse und siedet unter Atmosphärendruck bei +78°; spec. Gew. 0,806 bei 0°.

Absoluter Alkohol zieht begierig Wasser an, er mischt sich mit Wasser unter Volumkontraktion und Erwärmung.

Alkohol ist ein vorzügliches Solvens für zahlreiche organische Körper; auch anorganische sind in ihm löslich, so besonders bestimmte Chloride und Nitrate, während Sulfate und Karbonate in der Regel unlöslich sind; Gase lösen sich in ihm oft reichlicher als in Wasser.

Das typische Wasserstoffatom der Hydroxylgruppe ist im Alkohol durch Metalle ersetzbar. So löst sich Natrium- und Kaliummetall unter Wasserstoffentwicklung in ihm, wobei die Verbindung C_2H_5ONa, respektive C_2H_5OK (Natriumäthylat, respektive Kaliumalkoholat) entsteht; auch Zink- und Aluminiumalkoholat sind bekannt.

Alkohol ist ungemein beständig gegen reducirende Agentien, wenig widerstandsfähig gegen oxydirende Mittel. Chromsäure oder Mangansuperoxyd + Schwefelsäure führen ihn in Aldehyd (charakteristisch) und weiterhin in Essigsäure über. Jod und Alkali verwandeln ihn in Jodoform.

Zur Erkennung eines Gehaltes an Wasser versetzt man Alkohol mit der mehrfachen Menge Benzol. sind mehr als 3% Wasser zugegen, so erfolgt Trübung (durch Ausscheidung von Wassertröpfchen). Spuren von Wasser weist man durch folgende Probe nach: Zu 1 Mgrm. Anthrachinon fügt man den zu untersuchenden Alkohol und etwas Natriumamalgam. Rothfärbung zeigt Wassergehalt an, während absoluter Alkohol sich dunkelgrün färbt.

Nachweis von Alkohol: 1. Man versetzt die zu untersuchende Flüssigkeit in einem Reagensglase mit verdünnter Schwefelsäure und einem Körnchen Kaliumbichromat. Bei schwachem Erwärmen entweicht Acetaldehyd, CH_3 CH O. der ein in die Mündung eingeführtes, mit ammoniakalischer Silberlösung getränktes Reagenspapier schwärzt. (CH_3 CH_2 OH + O = = H_2 O + CH_3 CO H.)

2. Man erwärmt eine Probe schwach (auf 60—70°) mit Alkalilauge und einem Körnchen Jod oder mit etwas Jod-Jodkaliumlösung. Beim Erkalten scheidet sich Jodoform, CH J_3, aus, das an seiner gelben Farbe. seinem mikroskopischen Bilde (sechseckige Täfelchen) und dem charakteristischen Geruch erkannt wird (C_2 H_5 OH + 6 K OH + 8 J = 5 H_2 O + 5 K J + + H COO K + CH J_3). (Zu der Jodoformprobe ist zu bemerken, dass die meisten Substanzen mit der Atomgruppirung —CH_2—CO dieselbe Reaktion geben, so Aceton, Aldehyd. Milchsäure, Traubenzucker.)

3. Beim Schütteln von Alkohol mit Benzolchlorid und Natronlauge tritt der charakteristische Geruch nach Benzoësäureäthylester auf.

Die quantitative Bestimmung von Alkohol erfolgt am einfachsten durch Ermittlung des specifischen Gewichtes mit Hilfe eines Aräometers (Alkoholometer nach TRALLES), das den Alkoholgehalt in Volumprocenten anzeigt. Da die Gegenwart anderer Stoffe das specifische Gewicht des Alkohols beeinflusst, destillirt man ihn zunächst ab. *Neuberg*, Berlin.

Der Alkohol ist das älteste und bis auf den heutigen Tag eines der am häufigsten angewendeten Fixationsmittel. Auch die grosse Umwälzung in der mikroskopischen Technik, die Einführung des Mikrotoms. hat für ihn nur einen Rollenwechsel zur Folge gehabt: hatte er vorher unmittelbar dazu gedient, als »Härtemittel« dem Objekt schnittfähige Konsistenz zu verleihen. so wurde er nunmehr zur Nachbehandlung auch der in anderen Flüssigkeiten fixirten Objekte ein unentbehrliches, aber nicht ganz ungefährliches Hilfsmittel bei der Einbettung.

Der Alkohol gelangt nahezu in allen Stärkegraden zur mikroskopisch-technischen Verwendung. Besonders sorgsame Behandlung erfordert der absolute Alkohol, der rasch beim Gebrauch aus der Luft Wasser anzieht. Um ihn von den letzten Procenten Wasser zu befreien. bringt man stark wasseranziehende, in Alkohol unlösliche Mittel in die Vorrathsflasche: FOL benützt gebrannten Kalk, RANVIER Kupfersulfat, aus dem durch längeres Erhitzen auf dem Sandbad das Krystallwasser ausgetrieben wurde (weisses. geglühtes. kalcinirtes Kupfersulfat). Um beim Glühen die Bildung freier Säure zu vermeiden, setzt ELSCHNIG vor dem Glühen etwas gepulverte Kreide zu. Im Alkohol bläut sich allmählich das weisse Salz durch Wasseraufnahme und muss dann erneuert werden. In den chemischen Laboratorien verwendet man zum Trocknen des Alkohols Baryumoxyd, das in absolutem Alkohol gänzlich unlöslich ist. Am besten wickelt man die Trockenmittel in Gaze und umschnürt das Ganze fest, damit beim Abgiessen keine Theilchen mitgeschwemmt werden.

Um eine bestimmte Anzahl Cubikcentimeter verdünnten Alkohols von bestimmter Stärke zu erhalten, braucht man von dem vorhandenen stärkeren Alkohol $b\frac{x}{y}$ Ccm., wobei b die gewünschte Alkoholmenge, x die ge-

suchte, y die gegebene Koncentration bedeutet. Es ist praktisch, sich ein- für allemal für jede Vorrathsflasche, in der man Alkohol bestimmter Koncentration aufbewahrt, die nothwendigen Alkohol- und Wassermengen auszurechnen und in den betreffenden Höhen am Glase Marken anzubringen, bis zu denen man bei jeder Erneuerung auffüllt. Da sich Alkohol und Wasser nicht sofort mit einander mischen, müssen die frisch bereiteten Lösungen jedesmal tüchtig umgeschüttelt werden.

In älteren Arbeiten begegnet man häufig der Bezeichnung der Alkoholkoncentration nach Graden. Diese Gradeintheilungen beziehen sich auf die Aräometerskalen, deren man sich zur Stärkebestimmung bedient. TRALLES verzeichnet in seiner Skala die Stärke in Volumprocenten, RICHTER und STOPANI nach Gewichtsprocenten. Die Volumprocentbezeichnung ist in Deutschland gesetzlich eingeführt und alle unsere Angaben beziehen sich auf diese. Die Bezeichnung x^0 TRALLES bedeutet demnach $x^0/_0$ Alkohol.

Es giebt wohl kaum ein Objekt, für das die Alkoholfixation nicht einmal benützt worden wäre.

Früher begann man mit schwächeren Koncentrationen und steigerte allmählich den Stärkegrad. Die »Fixation in steigendem Alkohol« ist im ganzen als schlecht erkannt, sobald es sich nicht nur um die Erhaltung der groben Formverhältnisse, z. B. für systematisch-zoologische Zwecke handelt, wird aber dennoch hie und da auch noch für feinere Zwecke empfohlen, z. B. von NANSEN für Anneliden, von ARNOLD für anormale Mitosen in der Milz: 25—96$^0/_0$ Alkohol in 36—48 Stunden; von FRIEDLÄNDER für Bauchmark von Lumbricus; von LUDWIG für Holothurienentwicklung erst 50$^0/_0$, dann 70$^0/_0$; von ESCHWEILER für das Mittelohr; von JOANNOVICS nach UNNA für die Untersuchung der Plasmazellen. SCHOTTLÄNDER hat über die Schrumpfung der Chromatinfäden bei Behandlung des Bulbus mit steigendem Alkohol (je 8 Stunden in 25, 50, 75 und 100$^0/_0$), die gute Erhaltung der Spindeln und die Begrenzung der mitotischen Figur berichtet.

Der starke, nicht absolute Alkohol von 90—95$^0/_0$ liefert schon in einer grösseren Anzahl von Fällen brauchbare Resultate, sofern es sich nicht um stark wasserhaltige Gewebe handelt, die dann bis zur Unkenntlichkeit schrumpfen können. Von vielen Seiten ist er als unzureichend bezeichnet, von anderen Autoren indessen noch für die Darstellung feinerer Strukturen benutzt worden. So erklärt MINOT den 96$^0/_0$ Alkohol für brauchbar, REDDINGIUS sogar für Studien an Kernkörperchen.

Die relativ grösste Sicherheit einer tadellosen Fixation bietet der wirklich absolute Alkohol, der denn auch vielseitige Empfehlungen selbst aus der jüngsten Zeit für sich hat, z. B. von KÜCHENMEISTER für Speicheldrüsen, KUCZINSKI für BRUNNER'sche Drüsen, LEWASCHEW für Pankreas, MARTINOTTI und RESEGOTTI für Kerntheilungsfiguren, v. MARSCHALKÓ für Plasmazellen, BERGONZINI für granulirte Zellen des Bindegewebes. TEDESCHI fixirt das Myokard in absolutem Alkohol. Für die Fixation der Spongien ist der absolute Alkohol sogar das klassische Fixirungsmittel geworden, besonders auf die Empfehlung von F. E. SCHULZE hin. So fixirt MAAS Spongilla in absolutem Alkohol nach vorhergehendem Ausschwenken, ROUSSEAU empfiehlt ihn ebenfalls für diesen Zweck und nach LENDENFELD tritt sogar die Osmiumsäure dagegen zurück.

Die Fixation mit absolutem Alkohol muss unter gewissen Vorsichtsmassregeln geschehen: jede Erniedrigung des Stärkegrads infolge der Vermischung mit dem Wasser der Gewebe nähert seine Wirkung der des schlecht fixirenden verdünnten Alkohols umsomehr, je wasserreicher ein Organ ist. (Corpus vitreum des Bulbus!)

Daraus ergeben sich zwei praktische Regeln:

1. Man fixire in recht grossen Mengen, damit der Procentgehalt möglichst wenig herabsinkt (BANNWARTH).

2. Da der wasserhaltige Alkohol specifisch schwerer ist als der wasserärmere, so muss man das Objekt stets in die höchsten Flüssigkeitsschichten bringen, nicht etwa auf dem Boden des Gefässes in einem nur zu bald recht dünnen Alkohol liegen lassen. Man legt es entweder auf Watte oder hängt es entsprechend im Glase auf.

Alkohol gehört zu den am schnellsten die Gewebe durchdringenden Agentien. Dünne Membranen sind in 5—10 Minuten fixirt, grössere Stücke (5 Cmm.) in 2—3 Stunden, sehr grosse Stücke lässt man 24—48 Stunden darin; bei einigermassen grösseren Präparaten wechselt man in der Regel aus den oben angeführten Gründen den Alkohol mehreremale.

Für grössere Organe empfiehlt es sich auch sehr, zur Fixation reichliche Mengen absoluten Alkohols durch die Gefässbahn zu injiciren und dann das ganze Organ in absolutem Alkohol aufzuhängen. Es liefert diese Methode z. B. für die Säugethierniere häufig ausgezeichnete Resultate.

In wenigen Minuten wirkt bereits der bis zum Kochen erhitzte Alkohol: er bildet ein sehr brauchbares Fixationsmittel für die Arthropoden, deren starrer Chitinpanzer jedem anderen Mittel den Zutritt so lange wehrt, bis im Innern schon grobe kadaveröse Veränderungen aufgetreten sind. Adelung fixirt Locustiden in kochendem Alkohol, entpigmentirt sie mit Chloroform, dem $^1/_2$—$1^0/_0$ Salpetersäure zugesetzt sind, bringt sie in ein Gemisch von 1 Th. abs. Alkohol und 2 Th. Aether für einen Tag bei 50—60°. Nach Carnoy ergiebt diese Methode für die Fixation der Nematodeneier unzulängliche Resultate. Da bei diesem Verfahren wohl wesentlich die Hitze koagulirend wirkt, so sind auch schwächere Koncentrationen brauchbar: Kluge bedient sich für Vespa des $60^0/_0$igen Alkohols bei 40°, um die Luft aus dem Parenchym zu vertreiben. Mazzarelli fixirt kleine Stücke der Keimorgane von Aplysia 10 Minuten in heissem Alkohol (70—80°). van Rees fixirt Fliegenpuppen in Alkohol von 30—$100^0/_0$, der bis zur Gerinnungstemperatur des Eiweisses erwärmt ist, Ritter Chironomuseier in heissem, $30^0/_0$igem Alkohol und bringt sie dann in absoluten. Schwarz fixirt Cypridenmännchen zum Studium der Spermatogenese in $30^0/_0$igem Alkohol bei 70° und behandelt mit steigendem Alkohol weiter.

Die Bequemlichkeit der Nachbehandlung bei der Alkoholfixation ist einer der lockendsten Vortheile dieser Methode.

Will man die Objekte wie auf einer grösseren Expedition oder als Vorrathsmaterial aufbewahren, ohne sie sofort weiter zu verarbeiten, sie weiterhin in gleicher Weise für makroskopische, wie mikroskopische oder zoologisch-systematische Zwecke verwerthen, so ist nur die Ueberführung, sei es aus dem absoluten, sei es aus dem schwachen Alkohol in solchen von etwa $80^0/_0$ nothwendig, in dem man das Material nahezu unbegrenzt lang aufbewahren kann. Allerdings leidet bei mehrjährigem Aufenthalt im Alkohol schliesslich die Färbbarkeit einiger Objekte. Andere Gewebstheile, z. B. Dotter, werden auch schon bei kürzerer Aufbewahrung unschneidbar hart.

Andererseits ist aber auch die Alkoholfixation eine der schnellsten der üblichen Methoden, wenn man die fixirten Objekte gleich weiter zu bearbeiten wünscht; es ist kein Ueberschuss des Fixationsmittels zu entfernen, die Präparate brauchen nicht besonders entwässert, nicht besonders gehärtet zu werden, sondern sind aus dem absoluten Alkohol, den man noch einoder mehreremale wechselt, sogleich zur Ueberführung in Celloidin oder Paraffin mittels der betreffenden Intermedien bereit.

Die hauptsächlichste Verwendung in der Mikrotechnik, gegenüber der die Verwendung als Fixirmittel weit zurücktritt, findet der Alkohol in seinen steigenden Stärkegraden zur Entwässerung der in anderen Agentien fixirten und mit Wasser oder dünnem Alkohol ausgewaschenen Präparate. Fischer hat gezeigt, dass der Alkohol hierbei, sobald er erst einmal den wirksamen

Koncentrationsgrad erreicht hat, nach manchen Fixirmitteln, z. B. nach Osmiumsäure noch eine nicht zu unterschätzende Rolle bei der Ausfällung der durch voraufgegangene Mittel nicht gefällten und durch das Auswaschen nicht entfernten Eiweisskörper spielt.

Schon die wenigen angeführten Litteraturangaben beleuchten den Widerstreit der Meinungen über die Brauchbarkeit des Alkohols zur Fixation.

Für die Erhaltung feiner Strukturen ist als leitender Grundsatz zu betrachten, dass der Alkohol koncentrirt genug sein muss, um durch rasche Wasserentziehung alles Gerinnbare so schnell zu koaguliren, dass keine Zeit zum Eintreten grosser Schrumpfungen übrig bleibt.

Mit steigendem Stärkegrad steigert sich sowohl die Fällungskraft als die wasserentziehende Wirkung. Besonders in grossem Ueberschuss angewandt, würde ein schwächerer Alkohol die durch ihn überhaupt koagulirbaren Eiweisskörper wohl ausfällen, aber er würde dem Objekte infolge seines eigenen Wassergehaltes das Wasser so langsam entziehen, dass Schrumpfungen eintreten können. Man muss also über den zur Fällung nothwendigen Stärkegrad soweit hinausgehen, dass alle Objekttheile, auch die in der Tiefe des Präparats, mit hinreichend starkem Alkohol möglichst rasch in Berührung kommen. Natürlich kommt man dann bei ganz dünnen Membranen (Blattoberhäutchen, Epidermis) mit schwächeren Stärkegraden aus, als bei dicken; bei der wasserarmen Haut mit dünnerem Alkohol als bei dem wasserreichen Bulbus, und den Drüsen, für die man den Alkohol gar nicht koncentrirt genug anwenden kann.

Die vielfachen Klagen über Verunstaltungen der Zellen und der Gewebe, für die es unnöthig erscheint, Belege anzuführen, sind nicht dem Alkohol als solchen zur Last zu legen, sondern eben dem Umstande, dass er nicht allseitig im Augenblick der Berührung mit der Zelle koncentrirt genug war. Tellyesniczky und v. Wasielewski haben gezeigt, wie der Inhalt der Zelle und der Inhalt des Kernes gleichsam in der Richtung auf das Centrum des Stückes zu flüchtet und sich an der abgewandten Zellen- und Kernwand zusammenballt. Solche Bilder sind der Ausdruck des Herandiffundirens erst schwächeren, dann stärkeren Alkohols an die Zelle von einer Seite her, wie es in den tieferen Objektschichten naturgemäss eintreten muss.

Doch auch bei nicht in grobem Sinne verzerrten Kern- und Zellleibformen kann der Alkohol feinere Strukturverunstaltungen hervorrufen, die auf Fällungen gelöster Eiweisskörper beruhen: so dass Gebilde, wenn sie ausschliesslich nach Alkoholfixation zu beobachten sind, stets im dringenden Verdacht eines Kunstprodukts stehen müssen.

Andererseits ist nach Fischer der Alkohol nicht imstande, Albumosen und Nucleïnsäure in Wasser unlöslich auszufällen: daher rührt die von Hertwig betonte, mehr gleichmässige Gerinnung des Kerninhalts, daher die vergröberte, lückenhafte Kernstruktur in den Spinalganglienzellen des Frosches, die Bühler schildert, daher die Netzbildungen an Stellen, wo andere Fixationsmittel Bilder von Körnern und sonstige abweichende Fällungsformen aufweisen. (Paneth in den Körnchenzellen der Lieberkühn'schen Krypten.)

Endlich fehlen naturgemäss im Alkoholpräparat alle in Alkohol löslichen Bestandtheile der Gewebe: die Neutralfette, die allerdings im kalten Alkohol schwer löslich sind, deren Reste dann aber dem Aether, dem Xylol, dem Chloroform zum Opfer fallen, ferner das Myelin, die fettähnlichen Körnchen der Nebennierenrinde; allerdings erhält man von der Vertheilung dieser Substanzen durch die Ausfällung der alkoholunlöslichen plasmatischen Substanzen, die sie in der lebenden Zelle umhüllten, schöne Negativbilder von ihrem Vorkommen und ihrer Anordnung im Gewebe.

Auch andere im Plasma eingelagerte Stoffe verändert der Alkohol: schon nach minutenlanger Wirkungsdauer giebt das Protoplasma der Nebennierenmarkzellen nicht mehr die Chromreaktion; das Eleïdin der Epidermiszellen wird quantitativ und qualitativ durch Alkoholwirkung verändert (DREYSEL). Nach RIBBERT schwinden in den Lymphdrüsenzellen die Granula theilweise bei allen Methoden, bei denen überhaupt Alkohol zur Verwendung kommt. Nach AL. SCHMIDT entzieht der Alkohol die zymoplastischen Substanzen. Der Schleim zeigt hingegen nach Alkoholfixation nach SUSSDORF noch innige Verwandtschaft zu Farbstoffen, wie Methylviolett, Fuchsin, Methylenblau. SOLGER hat mittels des Alkohols Differenzen in der Struktur der Knorpelgrundsubstanz aufgefunden: diese »Alkoholreaktion« besteht im Auftreten opaker und hyaliner Stellen und wird von SOLGER als Unterschied in der Molekularstruktur gedeutet.

Für die ganz unregelmässige »schrumpfende« Wirkung des Alkohols sind die Untersuchungen von AIGNER von hohem Interesse, der zu anderem Zwecke die Schrumpfungsbilder an Gelatine-Injektionsmassen studirte und die Gleichmässigkeit der Schrumpfung vom Wassergehalt der Injektionsmasse abhängig fand. Solche Verhältnisse bieten auch natürliche Gebilde, wie die sekreterfüllten Drüsenräume, z. B. das Kolloid der Schilddrüsenbläschen dar, über deren Schrumpfung in Alkohol auch BOLAU berichtet.

UNNA erblickt den Vortheil des Alkohols für die Plasmafixation darin, dass er keine Verbindung mit ihm eingeht, sondern nur durch Wasserentziehung wirkt. Die oben erwähnte grosse Bequemlichkeit der Alkoholmethode bleibt stets ihr grösster Vorzug. Am Alkoholmaterial sind fast alle Färbungen möglich.

Daher wird man überall, wo es nicht sowohl auf peinliches Studium der feinsten Strukturen, als auf topographische Uebersichtsbilder ankommt, sich seiner mit Nutzen bedienen: z. B. bei der Konservirung injicirter Organe; ferner für viele zoologische, besonders systematische Zwecke.

Für feine Untersuchungen kann dagegen der Alkohol nur empfohlen werden, wenn die oben angeführten Bedingungen der guten Fixation erfüllt sind: z. B. bei Trockenpräparaten des Blutes (EISEN), bei dünnen Zellmembranen; bei einigermassen dichten, wasserhaltigen Objekten muss man stets darauf gefasst sein, dass nicht immer alle Schichten in gleicher Weise für feinere Untersuchungen brauchbar sich erweisen.

Die Alkoholfixation ist in neuerer Zeit durch die Empfehlung von NISSL und REHM zur Darstellung der Granulationen der Nervenzellen wieder besonders in Aufnahme gekommen. Ferner ist für einzelne Färbemethoden zur Untersuchung von Geweben auf bestimmte Einzelheiten die Alkoholfixation als beste vorgeschlagen worden: so von CANALIS der absolute Alkohol für die Bizzozerofärbung der Nebenniere mit Gentianaviolett. Weiterhin für die neueren Methoden der Darstellung der elastischen Fasern mit Orceïn und Kresofuchsin und der Färbung nach MARTINOTTI (siehe Elastische Fasern) (FERRIA).

Vielfach ist versucht worden, die Missstände des Alkoholmaterials zu beseitigen und besonders alte, lange aufbewahrte Stücke noch für histologische Zwecke nutzbar zu machen. KÜKENTHAL behandelt Alkoholmaterial von Opheliaceen mit Osmiumsäure nach (vergl. Osmiumsäure). BENDA stellt mit seiner sekundären Chromirung noch Centrosomen am Alkoholpräparat dar. LEWIS fixirt absichtlich erst 24 Stunden im Kühlen in 90%igem Alkohol und lässt dann erst die Chrombehandlung der Centralorgane folgen.

Litteratur: FOL (Lehrbuch etc., pag. 104), RANVIER (Journ. Roy. Micr. Soc. [2.], Bd. 4, 1884), ELSCHNIG (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), NANSEN (Bergens Mus. Aarsberetung for 1886). ARNOLD (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), FRIEDLÄNDER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), LUDWIG (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., Bd. 32, 1891), ESCHWEILER (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898), JOAN-

novics (Zeit. Heil., Bd 20, 1899), Schottländer (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), Minot (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), Reddingius (Virch. Arch., Bd. 162, 1900), Küchenmeister (Arch. mikr. Anat. Bd. 46, 1895), Kuczinski (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890), Lewaschew (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1886), Martinotti und Resegotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), von Marschalkó (Arch. Derm. Syph., Bd. 30, 1895), Bergonzini (Anat. Anz., Bd. 6, 1891), Tedeschi (Atti Real. Ac. Fisiocrit. Siena, Bd. 9, 1894), Maas (Zeit. wiss. Zool., Bd. 10, 1890), Rousseau (Annal. Soc. Belge Micr., Bd. 26, 1899), Lendenfeld (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Bannwarth (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), Bonnet (Technik, 1884), Carnoy (Cellule, Bd. 3, 1887), Adelung (Zeit. wiss. Zool., Bd. 54, 1892), Kluge (Arch. Naturgesch. 61. Jg., Bd. 2, 1895), Mazzarelli (Atti Ac. Napoli [2.], Bd. 4, 1891), van Rees (Zool. Jahrb., Bd. 3, 1888), Ritter (Zeit. wiss. Zool., Bd. 50, 1890), Schwarz (Ber. nat. Ges. Freiburg 1888), Fischer (Protoplasma 1899), Mc Murrich (Journ. Morph., Bd. 3, 1889), Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), von Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Hertwig (Morph. Jahrb., Bd. 3, 1877), Bühler (Verh. Phys. med. Ges. Würzburg [2.], Bd. 36, 1888), Paneth (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1887), Dreysel (Arch. Derm. Syph., Bd. 30, 1895), Ribbert (Virch. Arch., Bd. 150, 1897), Schmidt cit. nach Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 19, 1894), Sussdorf (Deutsche Zeit. Thiermed., Bd. 14, 1889), Solger (Arch. Anat. 1886), Aigner (Sitz. Ak. Wiss. Wien., Bd. 108, Abth. 3, 1899), Bolau (Inaug.-Diss. Jena 1899), Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 19, 1894), Eisen (Journ. Morph., Bd. 15, 1899), Nissl (Tgbl. Nat. Vers. Strassburg 1885, Centr. Nervenheilk., Bd. 17, 1894), Rehm (Münch. med. Woch., 1892), Canalis (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 4, 1887), Lenzi (Monit. Zool. Ital., Bd. 9, 1898), Ferria (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), Kükenthal (Jena. Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), Benda (Arch. Physiol. 1901), Lewis (Human brain, 1882). *Poll.* Berlin.

Alkohol-Gemische. Durch Mischung des Alkohols mit anderen fixirenden Agentien kann man ihn, ohne die Vortheile der Bequemlichkeit, des schnellen Eindringens und der Auflösung vieler Substanzen einzubüssen, von seinen Nachtheilen grossentheils befreien. Man muss nur — auch bei der Erfindung neuer Fixationsgemische — sich gegenwärtig halten, dass der Alkohol, wenigstens in stärkeren Koncentrationen, kein indifferentes Lösungsmittel, etwa wie Wasser, sondern ein recht zersetzlicher und mit anderen Körpern infolge seiner reducirenden Eigenschaften leicht neue Verbindungen bildender Körper ist.

Alkohol und Essigsäure liefert eines unserer besten Fixationsmittel; die Essigsäure bessert in zweifacher Weise:

1. Sie arbeitet mit ihrer quellenden Wirkung der schrumpfenden des Alkohols entgegen und verhindert so die gröberen Verunstaltungen, wenn das Verhältniss beider Substanzen auf das einzelne Objekt gerade richtig eingestellt ist.

2. Sie ergänzt die mangelhafte Kernkonservirung: denn sie fällt in den starken Koncentrationen, in denen sie gewöhnlich beigemischt wird, die Nucleïnsäure selbst bei alkalischer Reaktion.

v. Wasielewski bestätigt die gute Konservirung der Mitosen durch Essigsäure allein und stellt auch am botanischen Material die von Tellyesniczky betonte Brauchbarkeit des Gemisches zur Fixation fest. Daran ändert die Konstatirung Fischer's nichts, dass Alkoholessigsäure ein unsicheres Fällungsmittel sei.

Die Carnoy'sche Flüssigkeit besteht aus 100%igem Alkokol 3, Eisessig 1. In einer halben bis einer Stunde sind selbst grössere Stücke (1 Ccm.) fixirt. Nachbehandlung: absoluter Alkohol, der nach 24 Stunden einmal gewechselt wird. Einbetten durch Chloroform. Dies Gemisch ist für eines der am schwierigsten zu behandelnden Objekte, die Eier des Pferdespulwurms, Ascaris clavata und anderer Ascariden, ausgedacht, deren Eier nach van Gehuchten in 5—20 Minuten abgetödtet werden, während sie in den meisten anderen Flüssigkeiten tagelang am Leben bleiben. Es ist, nachdem man seine hervorragende Brauchbarkeit erkannt hatte, für mannigfache ähnliche Objekte, z. B. Eier und Embryonen anderer Wirbelloser (van Gehuchten, Camerano), aber auch für ganz andersartige, z. B. das Centralnervensystem (Kolster, Müller) verwandt und vielfach modificirt worden.

Modifikationen des Carnoygemisches. 1. Nach van Beneden und Neyt 100%iger Alkohol und Eisessig zu gleichen Theilen. Auch dieses

Gemisch ist für Ascariseier angegeben und dafür z. B. von KULTSCHITZKY erprobt worden. Für viele andere zoologische Objekte mit chitinöser oder sonst sehr undurchlässiger starker Haut, wie viele Anneliden, ist dieses Gemisch das einzige bis jetzt gefundene brauchbare Fixationsmittel: z. B. für Polychoerus caudatus (GARDINER); für Eier von Strongylocentrotus lividus (SCHNEIDER) und erfreut sich daher einer grossen Verbreitung.

2. Nach BOVERI ebenfalls für Ascariseier; er erhitzt die Alkoholessigsäure (100%iger Alkohol 100, Eisessig 1) zum Kochen und lässt die Eier darin zwei Stunden abkühlen. Auf die Gefahren grober Veränderungen bei diesem Vorgehen hat VAN GEHUCHTEN hingewiesen. Es wird dennoch hin und wieder angewandt (CAMERANO, für Eierstock von Gordius).

3. Nach SAUER: 100%iger (oder 90%iger) Alkohol 90, Eisessig 10 für Niere.

4. Nach KULTSCHITZKY (95) für Milz: ein Gemisch von Alkohol 100, Eisessig bis zu 1.

5. Nach HERLA und ZOJA für Ascaris: 100%iger Alkohol 5, Eisessig 1 auf 24 Stunden.

6. Nach DUBOSQ für Chilopoden: 100%iger Alkohol 10, Eisessig 1.

7. Nach KRONTHAL: $^1/_2$—1 Ccm. grosse Stücke der nervösen Centralorgane werden je 20—30 Minuten nacheinander mit den folgenden Gemischen von absol. Alkohol und Eisessig behandelt: 1. Alkohol 80, Eisessig 20; 2. Alkohol 85, Eisessig 15; 3. Alkohol 90, Eisessig 10; 4. Alkohol 95, Eisessig 5. Dann gelangen sie auf 1—2 Tage in einmal zu erneuernden reinen absol. Alkohol. Die Methode giebt auch für manche andere Organe brauchbare Resultate (Speicheldrüsen, Nebenniere, Niere). Bei der Fixation von bindegewebsreichen Organen soll man mit gleichen Theilen Alkohol und Eisessig beginnen und alle 20—30 Minuten um 5—10% den Essiggehalt vermindern. Wesentlich ist das allmähliche Fallen des Säuregehaltes.

Modifikationen des Carnoy-Gemisches mit verdünntem Alkohol. 1. Nach MC. GREGOR für Amphibienhoden: 70%iger Alkohol 2, Eisessig 1.

2. Nach SAUER siehe oben.

3. Nach ERLANGER für Ascariseier: 95%iger Alkohol 80, Eisessig 20. Darin können die Eiröhren aufgehoben werden; die Eier sind leicht isolirbar und lassen sich mit Glycerinfarblösungen färben; zum Schneiden Nachbehandlung mit 95%igem Alkohol, Chloroform.

4. Nach BOVERI (99) für Ascaris: 70%iger Alkohol 100, Eisessig 5—10; KLINKOWSTRÖM benützt für Prostheceraeus vittatus nach BOVERI 70%igen Alkohol 100, Eisessig 4.

5. Nach ZUR STRASSEN 24 Stunden in 96%igen Alkohol 4, Essigsäure 1, daraus in absoluten Alkohol.

Modifikationen des CARNOY'schen Gemisches mit Zusatz anderer Fixationsmittel. 1. CARNOY (87) selbst hat seinem Gemisch, um die Wirkung zu beschleunigen, Chloroform zugesetzt: 100%iger Alkohol 6, Chloroform 3, Eisessig 1. Fixationsdauer selbst für grössere Stücke $^1/_2$ bis 1 Stunde; Nachbehandlung mit absolutem Alkohol, Einbettung.

Auch diese Flüssigkeit ist zu den besten, bequemsten und meist verwandten Fixationsmitteln zu zählen, z. B. für Niere nach SAUER 3—5 Stunden lang, für Nerven zur Fixation des Axencylinders nach HELD, besonders aber seiner hohen Durchdringungsfähigkeit wegen für chitinöse Objekte, z. B. die Pauropoden (KENYON).

2. CARNOY und LEBRUN lösen zur Fixation der Eischläuche von Ascaris im chloroformhaltigen Carnoygemisch Sublimat bis zur Sättigung, lassen diese Flüssigkeit 10 Minuten einwirken, bis der Ovidukt zu Boden sinkt, waschen in schwachem Alkohol aus und bringen die Eier allmählich in 80%igen Alkohol.

3. Nach OHLMACHER: Alkohol abs. 80, Chloroform 15, Eisessig 5, Sublimat circa 20 Grm.; für allgemeine neurologische Zwecke verwendbar.

4. Nach ZOJA (93) für Ascaris: Alkohol abs., Eisessig aa., Sublimat bis zur Sättigung. Nach ZOJA (96) für Ascaris: Alcohol abs. 5, Eisessig 1. Für Schnitte setzt er auf je 2—3 Ccm. 1 Tropfen 10%iges Platinchlorid zu und behandelt 1—2 Tage in absolutem Alkohol nach.

5. Nach LAVDOWSKY: 95%iger Alkohol 10, 1%iges Platinchlorid 10, 0,5%ige Essigsäure 100.

6. ZACHARIAS verwendet für Ascariseier ein Gemisch von absol. Alkohol 8 Ccm., Eisessig 2 Ccm., 1%ige wässerige Osmiumsäure 2—3 Tropfen und setzt ein wenig Chloroform oder Glycerin hinzu. Fixation bei gewöhnlicher Temperatur 20—25 Minuten, bei 24° 10—15 Minuten. Auswaschen 2—3 Stunden in absol. Alkohol, Aufbewahren in 70%igem Alkohol.

LAVDOWSKY benutzt für Mitosestudien: 95%igen Alkohol 20, Eisessig 1, Formol 6, Wasser 40 und 95%igen Alkohol 15, Eisessig 1, Formol 5, Wasser 30.

Alkohol und Ameisensäure. Nach RETTERER 24 Stunden 36grädiger Alkohol 10, Ameisensäure 1. Auswaschen in Alkohol u. s. w. Zur Unterscheidung von glatten Muskelfasern und Bindegewebe. REGNAULD benützte dieselbe Mischung zur Untersuchung der glatten Muskelfasern der Prostata: RETTERER (98) zum Studium der elastischen Fasern.

Alkohol und schweflige Säure. CARNOY (85) benützt als Fixationsmittel für zarte, zerzupfte Arthropodenhoden zum Studium der Kerntheilung die Dämpfe der schwefligen Säure, gelöst in Alkohol, und empfiehlt diese Methode als ausgezeichnete Kern-, aber weniger gute Plasmafixation. Die Objekte werden 3—5 Sekunden über den Hals der Flasche gebracht, die die Lösung enthält. Die Nachbehandlung muss durch sorgfältiges Auswaschen jede Spur der Säure entfernen. Später (86) benutzte er für die Eier von Ascaris megalocephala die Flüssigkeit selbst: die in Methylgrünlösung auspräparirten Ovarienstücke kommen auf dem Objektträger in einen grossen Tropfen, bis diese entfärbt ist; dann folgt Auswaschen, bis keine Spur der Säure mehr vorhanden ist und Einschluss in Glycerin oder dem Gemisch von RIPART und PETIT. Material zum weiteren Gebrauch fixirt man 1—8 Stunden, wäscht aus und bringt es in starken Alkohol. — GILSON giebt einige genauere Vorschriften: die Mischung wird hergestellt durch Durchleitung der gasförmigen, gut getrockneten schwefligen Säure durch abgekühlten absoluten Alkohol. Die Flüssigkeit muss vor Licht geschützt, am kühlen Ort in einem Gefäss mit kaltem Wasser stehend aufbewahrt werden. Zur Fixation mit der Lösung sind 2—10 Minuten erforderlich, je nach der Grösse; das Stück gelangt in schwachen Alkohol sehr kurze Zeit, dann in saure Methylgrünlösung. Für Paraffinpräparate eignet sich die Methode nicht. Die Räucherung mit den Dämpfen der schwefligen Säure geschieht einige Minuten lang über dem geöffneten Flaschenhalse; die Lösung wird erhitzt und durch einen seitlichen Tubus leitet man die überschüssigen Dämpfe ins Freie. Nach CARNOY (87) tödtet Alkohol, der 100—150 Volumina schwefliger Säure enthält, Ascarislarven in 3 Minuten ab. Die Mischung verwenden in gleicher Weise VAN GEHUCHTEN (89), LEBRUN für Amphibienovidukt und WADDINGTON. Nach OVERTON liefert er für botanische Objekte treffliche histologische Bilder und völlige Entfärbung.

Alkohol und Salpetersäure. MAYER fixirt Seethiere in einem Gemisch von 40%igem Alkohol 97, Salpetersäure 3, unter Zusatz von etwas Pikrinsäure so lange, bis sie gut durchtränkt sind; Auswaschen mit 90%igem Alkohol, bis die gelbe Farbe geschwunden ist. Das Gemisch ist wesentlich für makroskopische Zwecke erdacht. SAUER erhält gute Bilder vom Nierenepithel bei Anwendung von 90%igem oder 100%igem Alkohol 90, Salpetersäure 10.

Zum Entkalken siehe dort.

Zum Bleichen siehe dort.

Zum Erweichen von Chitin siehe Chitin.

Alkalischer Alkohol nach HELD: 80%iger Alkohol 100, Natriumhydroxyd 0,025 bis 0,25, zum Lösen der Nisslschollen (vergl. Nervenzellen).

Jodalkohol. Auch die Kombination von Alkohol verschiedener Stärkegrade mit Jod hat vielfach Anwendung gefunden.

MASON fixirt Amphibien- und Reptiliengehirne in Jodalkohol 6—12 Stunden und behandelt nach mit Kaliumbichromat (vergl. auch: Chromsaure Salze).

In ähnlicher Weise benutzt FRITSCH den Jodalkohol mit nachfolgender Chromirung zur Behandlung von Fischgehirnen. BETZ fixirt das Centralnervensystem in 75—80%igem Alkohol mit Jod bis zur hellbraunen Färbung: Weiterbehandlung siehe bei Kaliumbichromat. P. SCHULTZ benutzt für Giftdrüsen von Kröten und Salamandern die BETZ'sche Jodalkohol-Chromat-Methode. BRANDT nimmt für Sphärozoen Jodspiritus: 1 Theil 70%igen Alkohol, 1 Theil Meerwasser mit Jodtinktur bis zur hellgelben Färbung für 15—30 Minuten, Auswaschen in Süsswasser. HÄCKER empfiehlt Jodalkohol für Amöben, KAPELKIN 70%igen Alkohol mit Jod für Haut von Petromyzon, LAUTERBORN für Protozoen (Ceratium hirundinella) u. a. auch 45% Jodalkohol für 10 Minuten.

Formolalkohol: er kombinirt die schrumpfende Alkoholwirkung mit der quellenden des Formol. Nach FISH: fixiren 12—24 Stunden in 95%igem Alkohol 100, Formol 10. Nachbehandlung: absoluter Alkohol oder direkt in Chloroform oder Cedernöl. Nach BENARIO: Formol 1, Wasser 9, absoluter Alkohol 90. Nach NIKIFOROFF: Formol 10, Alkohol 90. Nach PARKER und FLOYD: Formol 1, Wasser 49, 95%iger Alkohol 75 für Gehirn. Nach GUILLARD: Formol 1, Alkohol 9, für Blut.

Alkohol-Aether. Mischungen von absolutem Alkohol mit Aether haben hauptsächlich zur Fixation des Blutes Verwendung gefunden, und zwar zu gleichen Theilen gemischt (NIKIFOROFF), ausserdem auch für Gemmosporidien des Blutes (LABBÉ), für Ausstrichpräparate von Riesenzellen (SALVO) und Sperma (REDDINGIUS). Fixationsdauer 2 Stunden. (Näheres siehe bei Blut.)

Alkohol mit essigsaurem Aether. Nach KULTSCHITZKY für Ascaris: Essigsaurer Aether 3 Theile, absolut. Alkohol 1 Theil, eventuell dazu $^1/_3$ Aq. dest.

Alkohol, Glycerin, Wasser. Von KUPFFER für Gastrulation meroblastischer Eier empfohlen: 4 Stunden in gleiche Theile absoluten Alkohol, Glycerin, Wasser; dann in absoluten Alkohol.

Alkohol und Osmiumsäure siehe Osmiumsäure.

Alkohol und Chromsäure siehe Chromsäure.

Alkohol, Chromsäure und Oxalsäure siehe Chromsäure.

Alkohol, Chromsäure und Salpetersäure siehe Salpetersäure.

Alkohol und Eisenchlorid siehe Eisenchlorid.

Alkohol und Kaliumbichromat siehe Chromsaure Salze.

Alkohol und Kupfersulfat siehe Kupfersulfat.

Alkohol und Sublimat siehe Sublimat.

Litteratur: VON WASIELEWSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), TELLYESNICZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), FISCHER (Protoplasma 1899, pag. 10), CARNOY (Cellule, Bd. 3, 1886), VAN GEHUCHTEN (Anat. Anz., Bd. 3, 1888 und Cellule, Bd. 5, 1889), CAMERANO (Mem. Ac. Torino [2.], Bd. 40, 1890), E. MÜLLER (Arch. mikr. Anat., Bd. 55. 1899), KOLSTER (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), VAN BENEDEN und NEYT (Bull. Ac. Sc. Bruxelles, 3 série, Bd. 14, 1887), KULTSCHITZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 31 u. 32, 1888/89), GARDINER (Journ. Morph., Bd. 11, 1895), SCHNEIDER (Arb. Zool. Inst., Wien, Bd. 9, 1891), BOVERI (Jena. Zeit. Nat., Bd. 21, 1887), SAUER (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), KULTSCHITZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), HERLA (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 13, 1896), ZOYA (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), DUBOSQ (Arch. Zool. Exper.

[3.], Bd. 6, 1899), Mc. Gregor (Journ. Morph., Bd. 15, Suppl. f. 1889), von Erlanger (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), Boveri (Festschr. f. Kupffer, 1899), Klinkowström (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1897), zur Strassen (Arch. Entwicklungsmech., Bd. 3, 1896), Carnoy (Cellule, Bd. 3, 1887), Held (Arch. Anat. 1897), Kennyon (Tufts Coll. Stud., 1896), Carnoy und Lebrun (Cellule, Bd. 13, 1897), Ohlmacher (Bull. Ohio Hosp. Epileptics, 1898 und Centr. Nervenheil., 1899), Zoya (Boll. Scient. Pavia, Anno 15, 1893), Lavdowsky (Anat. Hefte, Bd. 4, 1894), Zacharias (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887 und Anat. Anz., 3. Jahrg., 1888), Retterer (C. R. Soc. Biol. [8.], Bd. 4, 1887), Regnauld (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 28, 1892), Retterer (C. R. Soc. Biol. [10.], Bd. 5, 1898), Carnoy, Cellule, Bd. 1, 1885), Gilson (Cellule, Bd. 2, 1886), Waddington (Journ. Roy. Micr. Soc. [2.], Bd. 3, 1883), Overton (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Lebrun (Cellule, Bd. 7, 1891), Mayer (Mit. Zool. Stat. Neapel, Bd. 2, 1880), Mason (Whitman-Methode), Fritsch (Untersuchungen über den Bau des Fischgehirns, Berlin 1878), Betz (Arch mikr. Anat., Bd. 39, 1893), Brandt (Flora und Fauna, Golf, Neapel, Bd. 13, 1885). Schultz (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), Häcker (Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899), Kapelkin (Schrift. Ges. Nat., Moskau, Bull. Nr. 3, 1896 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), Lauterborn (Zeit. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), Fish (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 18, 1897), Benario (Deutsche Med. Woch., 1894), Nikiforoff (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), Parker und Floyd (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), Guillard (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), Labbé (Arch. Zool. Exp. [3.], Bd. 2, 1894), Salvo (Giorn. Assoc. Napol. Med., Anno 5, 1894), Reddingius (Virch. Arch., Bd. 162, 1900), von Kupffer (Arch. Anat. 1884).

Poll, Berlin.

Allium siehe Kerntheilung, pflanzliche.

Altmann'sche Granula-Methoden. I. Altmann's Theorien. Altmann geht in seinen theoretischen Betrachtungen von der echten Pigmentzelle als dem Prototyp des protoplasmatischen Baues und von der Muskelfaser aus. Er nimmt von den Körnchen der ersteren, welche in der gleichen Zellgattung alle sowohl von gleicher Grösse, als auch von gleicher Form und daher mit den unregelmässigen Schollen und Brocken der hämatogenen Pigmente nicht zu vergleichen sind, an, dass sie ebenso gut organisirte Körperchen seien, wie dies allgemein von den Elementen (Disdiaklasten) der Muskelfibrille angenommen werde. Zwischen den Körnchen (Granulis) der Pigmentzelle wäre eine Intergranularsubstanz gelagert, die ebenfalls von granulärem Baue sei, nur von sehr viel feinkörnigerem Gefüge, und welche zugleich die Matrix für die gröberen Granula, also wohl den wichtigsten Theil des Zellleibprotoplasmas darstelle. Zwischen diesen feinsten Granulis, diesen letzten Elementen, bleibt wieder ein intergranulärer Raum übrig; es sei aber nirgends bewiesen, dass dieser Raum noch einen lebendigen, homogenen Inhalt besitze.

Dass nach diesem Typus der Leib der meisten Zellen gebaut sei, glaubt Altmann durch seine Methoden der Granulafärbung bewiesen zu haben, welche überall gröbere Granulationen aufzeigen, zwischen denen eine sich färbende Intergranularsubstanz liegt, die in sehr vielen Fällen (Speicheldrüsen und deren Verwandte. Leber, Interfibrillärgranula der Muskelfibrillen und der Axencylinderfibrillen des Nerven) in Granula feinster Art, sei es in Körnchen oder in Stäbchen, aufgelöst werden konnte. Die gröberen Granula dienen dem intracellulären Stoffwechsel, indem sie durch Assimilation sich mit Stoffen beladen und infolge dessen eine veränderte Reaktion zeigen (Osmiumreaktion bei Fettgranulis sowohl der Leber, des Darms, als des embryonalen Fettgewebes. der Milchdrüse, der Bürzel- und Anal-Fettdrüsen. Verlust der specifischen Fuchsinreaktion bei den Sekretgranulis der Eiweiss- und Schleimdrüsen).

In vielen Fällen gelingt der experimentelle Nachweis, dass die kleineren Granula der Intergranularnetze die Matrix der gröberen Granula darstellen (Leber, Speicheldrüsen und ihre Verwandten, Pankreas, Eileiterdrüsen der Anuren). Sind die assimilirenden gröberen Granula erschöpft (starke Fettanhäufung oder profuse Sekretion, z. B. nach Pilokarpinvergiftung, Milchsekretion, s. a. Steinhaus [I]), so tritt eine lebhafte Vermehrung der kleinen Granula der Matrix ein, indem diese Körnchen Fäden bilden, respektive zu

solchen auswachsen; durch multiple Theilung dieser Fäden werden viele neue Körner geschaffen, die dann rasch heranwachsen und bis zu einer gewissen Grösse — die manchmal die der ausgebildeten groben Granula annähernd erreicht — ihre specifische Fuchsinreaktion bewahren. Letztere geht dann in dem Maasse wieder verloren, als diese Körner durch eigene assimilatorische Thätigkeit sich zu specifischen Sekretkörnern (Zymogenkörnern) umwandeln. Bei der Sekretion werden diese Körner meist eingeschmolzen; in den Oberkiefer- und Augendrüsen der Schlangen sind sie aber noch in den grösseren Ausführungsgängen vorhanden, desgleichen sieht man auch in früheren Stadien der Milchsekretion (Colostrumbildung) viele noch unverfettete Granula in den Ausführungsgängen (ALTMANN, I, Taf. XVII, Fig. 2). [Ueber die Abstossung ganzer granulagefüllter Zelltheile siehe die Anal- und Präputialdrüsen, HARDER'sche Drüse, Nieren u. a. I. pag. 109 u. ff.]

Neben diesen vegetativen Processen hat ALTMANN auch den Leistungen der Nerven und Muskeln vom Standpunkte seiner Theorie aus Aufmerksamkeit geschenkt. An Embryonen von Fröschen, Salamandern (der Referent) und von Proteus anguineus liess sich die Entstehung der Muskelelemente aus fuchsinophilen Granulis verfolgen, die, erst regellos auftretend, sich bald in Zügen und Reihen ordnen; mit der Ausbildung der Muskelfibrille hat jedoch der »Disdiaklast ebenso wie das ausgebildete Sekretkorn« seine specifische Färbbarkeit verloren: zwischen den Reihen der kontraktilen Elemente liegen aber im ausgebildeten Muskel (s. I, Taf. IX u. X) noch kleine echte rothe Granula oder solche, die sich mit Osmium schwärzen, welche dann, dem Sarkoplasma angehörend, für die Ernährung des Muskels von Bedeutung sind.

Für die Nervenfibrille nimmt ALTMANN eine Zusammensetzung aus kurzstäbchenförmigen Granulis an (Silberbilder ohne Angabe der Methode, I. pag. 62, Fig. 5); die KUPFFER'schen (I) Körnchenreihen würden der Interfibrillärsubstanz des Axencylinders angehören. Nach ALTMANN würde der Fibrille, sei sie nun kontraktil oder nur leitend, immer eine Zusammensetzung aus kleinsten Elementen (Körnern oder Kurzstäbchen) eigen sein. (Referent [II] hat eine solche Zusammensetzung für die Spindelfibrillen der Kerntheilungsfiguren nachgewiesen.)

Der Kern zeigt nach ALTMANN ebenfalls eine Zusammensetzung aus Granulis und einer intergranulären Substanz. Letztere giebt Chromatinreaktion und stellt ein äusserst zartes intergranuläres Netz dar; dieses Netz soll mit den gewöhnlichen Kernfixirungsmitteln zu dem Kerngerüst der Autoren vergröbert werden. Das intergranuläre Netz hält ALTMANN für das intakte Protoplasma, für den wichtigsten Theil des Kernes, die darin eingelagerten Granula nur für Assimilationsorgane, deren Stoffwechselprodukte uns noch unbekannt sind (III, pag. 228). Eine Auflösung des intergranulären Kernnetzes in feinste Granula ist ALTMANN im ruhenden Kern nicht gelungen, wohl aber tritt diese granuläre Natur hervor bei der Kerntheilung. Bei beginnender Theilung treten statt des intergranulären Netzes jene feinen Knäuel auf, die sich augenscheinlich durch Konjugation ihrer Elemente vergröbern und schliesslich zur Bildung der Aequatorialplatte führen (III, pag. 228 unten).

Anmerkung des Referenten: Der granuläre Ban der Chromatinsehleifen ist ja sehon von PFITZNER, BALBIANI, VAN BENEDEN, NEYDT u. a. gesehen worden, ebenso vom Referenten (II). Die von ALTMANN gegebenen Abbildungen (I, Taf. 33, Fig. 1—15), die sich zum Theil vollständig mit den vom Referenten gegebenen deeken, zeigen die Cyaninfärbung nach Osmium-Goldchloridbehandlung an den Sehleifen-Granulis ganz wie an den Granulis des ruhenden Kerns, welehe in den Masehen des intergranulären Netzes liegen (s. ALTMANN, III, pag. 224, Fig. 1 A u. 1, Taf. VI, Fig. 3 und 4). Wie diese Veränderung der doeh naeh ALTMANN vom intergranulären Netze stammenden Granula der Schleifen vor sich geht, hat er nieht angegeben. Die vom Referenten untersuehten Objekte (Spermatoeyten der Salamanderhoden) zeigen die Granula des ruhenden und die zu Sehleifen angeordneten des sich theilenden

Kerns von gleicher Grösse und Reaktion durch alle Phasen hindurch, wenigstens soweit es die homoiotypen Formen betraf.

Altmann ist nun durch seine Untersuchungen auf einen ganz besonderen Standpunkt gelangt, von dem er die Lehre von der Zelle und von den Organismen aus reformiren will. Das Granulum ist der eigentliche Elementarorganismus, die Zelle nur eine Kolonie von solchen.

Das Granulum ist der organisirte Krystall, es ist aber kein Abscheidungsprodukt eines homogenen Protoplasmas, es kann nur aus Granulis hervorgehen — omne granulum e granulo. Ausserhalb des Zellverbandes kann es nicht mehr existiren, daher es als Cytoblast, und zwar nackter, von den freilebenden, mit einer Hülle versehenen Autoblasten (Mikroorganismen) zu unterscheiden ist; je nach dem Auftreten in einzelnen Körnern oder aneinandergereiht zu Fibrillen wären als Formelemente die Monoblasten und die Nematoblasten zu charakterisiren; je nachdem sie den Kern oder den Zellleib aufbauen, sind sie Karyoblasten oder Somatoblasten. Wie im Leben der einzelnen Zelle, und zwar sowohl im Kern wie im Zellleibe die Körnchen der Intergranularsubstanz die Matrix für die gröberen Granula darstellen, so ist für die Entwicklung der Zelle der Kern als Matrix, als die ursprünglichste Kolonie, aufzufassen. Derselbe hätte sich encystirt und sekundär den Zellleib gebildet. (Altmann führt VII, pag. 240 u. ff. u. a. a. O. die Erscheinungen der Encystirung der Protozoen durch Bildung von Grenzschichten an, die durch Lücken permeabel bleiben und durch welche das encystirte Plasma heraustritt.) An die Granula, sowohl die gröberen als die feinen der Intergranularsubstanz, sind daher alle vitalen Processe gebunden, die restirende Zwischensubstanz ist todt.

Den Weg der Zellkolonieentwicklung aus der ersten Stufe der Autoblasten markirt Altmann in Anlehnung an Häckel durch die Moneren — Granula mit ausgeschiedener Intergranularsubstanz ohne Centralkörper, ähnlich der Zoogloea (s. Hauser) —, weiter die Metamoneren — sie enthalten die Bildungsstufen des Kernes, entsprechend den Verhältnissen vieler Protozoen, respektive grösserer Spross- und Hefepilze — und endlich die Zellen.

Die theoretischen Anschauungen Altmann's haben eine eingehende Kritik durch Flemming, Oskar, Hertwig, Roux, Ehrlich u. a. erfahren. Ehrlich, dem wir ja den ersten Hinweis auf die biologische Bedeutung gewisser Zellgranulationen und dementsprechend eine ganze Reihe von Arbeiten verdanken, welche die klinische Bedeutung dieser Gebilde darlegen, hat auch der Methodik Altmann's einige kritische Bemerkungen gewidmet: in grossem Umfange ist dies dann von Fischer (I) geschehen (vergl. auch A. Bethe (I).

II. Methoden der Fixirung und Färbung. Die hauptsächlichste Granulamethode bildet die Fixirung in der Osmium-Kalibichromat-Mischung, die gemeiniglich unter dem Namen Altmann's Gemisch bekannt ist. Kalibichromatlösung 2,5%, Osmiumsäure 2% zu gleichen Theilen gemischt. Für diese vollkommen neutrale Mischung ist Hauptbedingung, dass die zu fixirenden Organstücke vollkommen frisch hineingelangen. Dass nur kleinste Stückchen, resp. nur dünne Platten von grösseren Stücken eingelegt werden dürfen, ist wegen der bekannten geringen Eindringungstiefe der Osmiumlösungen selbstverständlich. Die Menge der verwendeten Mischung soll immer das 15—20fache des Volumens der Organstückchen betragen. Die Stücke verweilen 24 Stunden in der Mischung, doch können sie meist auch ohne Schaden bis 48 Stunden darin bleiben. Dann werden sie in fliessendem Wasser ausgewaschen, was 12—24 Stunden in Anspruch nimmt; bei ganz kleinen Stückchen genügen auch oft 6 Stunden. Hierauf folgt ein mehrstündiges Einlegen in destillirtes Wasser und dann die Entwässerung in 70%igem, 90%igem und absolutem Alkohol; jeweils 5—6 Stunden bei häufigem Wechsel und

genügend grosser Menge des Alkohols. Jetzt kommen die Stücke in eine Mischung von Alcoh. absol. und Xylol, nach 12—20 Stunden in reines Xylol, dann in Xylol-Paraffin, um darauf in Paraffin eingebettet zu werden. Das Xylol ist mehrmals zu wechseln, und sollen die Stückchen nicht länger als 20—24 Stunden darin bleiben — meist genügt schon eine kürzere Zeit —, sonst werden sie spröde. Dagegen schadet nicht ein längeres Verweilen in einer Mischung von Xylol-Paraffin, welche soviel Paraffin von 58—59° C. Schmelzpunkt enthält, dass sie in einem Thermostaten von 25° C. eben anfängt zu erstarren. Ja für manche Organe, welche viel Bindegewebe enthalten, wirkt ein längeres Verweilen in Xylol-Paraffin sogar günstig auf die Schnittfähigkeit. Darauf kommen die Stückchen in eine Mischung von Xylol-Paraffin von höherem Paraffin-Gehalte, die soviel davon enthält, dass sie auf der Platte des auf 60° gehaltenen Paraffinofens in einer Kapelle stehend, in ihren oberen Schichten erstarrt. Hierin sollen sie nicht länger als 10 bis 12 Stunden bleiben, ebensowenig wie in dem jetzt folgenden geschmolzenen Paraffin von 58—59° Schmelzpunkt. Für kleinste Stückchen sind auch schon 3—4 Stunden genügend, um alles Xylol verdunsten zu lassen, wenn nur die versenkten Schälchen des Ofens, die das Paraffin enthalten, ganz flach und breit sind. Ueber die Anfertigung der Schnitte und die Färbung s. weiter unten.

Wie erwähnt, ist die Fixirung in dem Kalibichromat-Osmium-Gemisch die wichtigste der Altmann'schen Methoden, denn sie erlaubt die Zellgranula überall, sowohl in Organen der Kaltblüter, als in denen der Warmblüter, darzustellen. Weniger universell ist die folgende Fixirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd; wo sie anwendbar, giebt sie allerdings noch lebhaftere Färbungen. Rothes, trockenes Quecksilberoxyd wird durch Verreiben in der Reibschale bis zur Sättigung in Salpetersäure von 1,185 p. s. gelöst; von dieser vorräthig gehaltenen Lösung jeweils beim Gebrauch 1 Volumen mit 3 Volumina Wasser und 1 Volumen Ameisensäure von 1,12 p. s. vermischt. Die kleinen, ganz frischen Organstückchen werden sofort nach der Vermischung in diese Flüssigkeit eingelegt und 2—3 Stunden darin belassen. Es tritt bald ein Niederschlag auf, anscheinend nur auf der Oberfläche der Organstückchen, im Innern fand Altmann keine Quecksilber-Niederschläge. Die Stückchen werden dann direkt in absoluten Alkohol übertragen, dieser mehrmals gewechselt und darauf die Stücke wie oben bis zur Einbettung weiter behandelt.

Setzt man anstatt der Ameisensäure dem Quecksilbergemisch 1 Volumen Eisessig zu, so ist die Mischung haltbar und es treten keine Niederschläge auf.

Zur Fixirung embryonalen Gewebes empfiehlt Altmann eine Lösung von rothem Quecksilberoxyd in Pikrinsäure mit gleicher Weiterbehandlung wie oben. Im allgemeinen stehen nach Ansicht des Referenten diese letzteren Gemische wegen der primären Fällungen, die in unbeherrschbarer Weise darin auftreten, dem Kalibichromat-Osmiumgemisch beiweitem nach.

Die mit diesen Methoden gewonnenen Präparate müssen in sehr dünne Schnitte zerlegt werden, im Mittel 2—2,5 μ dick. Die Schnitte werden auf den Objektträger aufgeklebt und nach Entfernung des Paraffins mittels Xylol gefärbt. Zum Aufkleben genügt in den meisten Fällen die Methode von Krause mittels 40%igen Alkohols, hierbei ist die Schnittstreckung eine sehr gute. Für solche Präparate, die sehr fettreich und mit der Osmiummischung fixirt sind, ist folgende, von Altmann ausgearbeitete Methode vorzuziehen. Die Objektträger werden mit einer Traumaticinlösung (die käufliche Lösung im Verhältniss 1 : 25 mit Chloroform verdünnt) übergossen, abgetropft und lufttrocken gemacht. Dann werden sie über dem Bunsenbrenner stark erhitzt, bis der angenehme Geruch deutlich geworden ist. Die so vorgerichteten, mit einer dünnen Kautschukschicht überzogenen Objektträger lassen sich aufbewahren. Die Paraffinschnitte werden auf ihnen angepinselt

mit folgender Flüssigkeit: 2 Grm. Schiessbaumwolle in 50 Ccm. Aceton gelöst: 5 Ccm. der Lösung mit 20 Ccm. absoluten Alkohols verdünnt. Die angepinselten Schnitte werden mit Fliesspapier unter starkem Druck angepresst. Die Schnitte halten dann alle Manipulationen des Färbens etc. aus, werden aber nicht gestreckt, so dass ein möglichst glattes Auflegen beim Schneiden erforderlich ist.

Die Färbung der Zellleibgranula geschieht in folgender Weise: Die mit Xylol vom Paraffin befreiten Schnitte werden durch 96%igen Alkohol vom Xylol befreit und dann mit der Farbflüssigkeit übergossen. Diese ist eine Anilinwassersäurefuchsinlösung* und wird wie folgt bereitet. In 100 Ccm. einer kalt gesättigten und filtrirten Lösung von Anilin in Aqua dest. trägt man 20 Grm. Säurefuchsin ein und filtrirt. Die Lösung wird in möglichst hoher Schicht auf den Objektträger gegossen und letzterer dann langsam erwärmt, bis er sich auf dem Daumenballen heiss anfühlt und die Farblösung dampft. Man lässt dann ein wenig abkühlen und wiederholt das Erwärmen. Dann lässt man vollständig erkalten, giesst ab und wischt mit einem Tuche auch die angetrockneten Farbstoffränder und die überschüssige Farblösung unter Neigung des Objektträgers bis dicht an die Schnittgruppe ab. Dann beginnt die Differenzirung mit Pikrinalkohol. Nach den Erfahrungen des Referenten (III, pag. 301) hält man sich am besten 2 Koncentrationen von diesem vorräthig: Lösung I: gesättigte Pikrinsäurelösung in absolutem Alkohol 1 Vol., dazu 20%igen Alkohol 4 Vol.; Lösung II: gesättigte, alkoholische Pikrinsäurelösung 1 Vol., dazu 20%igen Alkohol 7 Volumina.

Man giebt von der Lösung I auf den Träger, schwenkt hin und her und giesst ab, wobei der allergrösste Theil des Farbstoffes entfernt wird. Man giesst dann wieder von Lösung I auf und beobachtet, bis die Schnitte einen gelblich-rothen Farbenton zeigen, dann ist gemeiniglich die Reaktion beendet, d. h. es sind alle Granula des Zellleibes roth gefärbt, die Kerne, das Bindegewebe gelbgrau; an Drüsen, welche das intergranuläre Netz gut zeigen, hat dieses ebenfalls den Fuchsinton. Man spült dann rasch die überschüssige Pikrinsäure mit Alkohol ab. Im Sommer oder in stark geheiztem Zimmer ist ein Erwärmen des Objektträgers mit der Pikrinsäurelösung nicht nöthig, wohl aber bei niedriger Zimmertemperatur. Das Erwärmen geschieht am besten, indem man die Träger auf die Platte des Paraffinofens oder in einen Thermostaten legt. Es ist aber angezeigt, bei mangelnder Uebung hiefür die Lösung II zu benützen und die fortschreitende Differenzirung unter dem Mikroskope zu kontroliren. Man spült zu dem Zwecke mit 96%igen und dann mit absolutem Alkohol ab, giebt Xylol und Deckglas darauf. Ist obiges Bild noch nicht erreicht, liegen die Granula noch nicht isolirt, sondern zeigen sich diffus rothe Farbstofflecken, so wiederholt man die Differenzirung. Auch hier ist es gut, die Lösung II zu benützen, wenn nur noch geringe Unterschiede beseitigt werden sollen. Will man die Präparate einschliessen, so ist darauf zu achten, die Pikrinsäure mit 96%igem Alkohol gründlich auszuwaschen, dies erhöht die Haltbarkeit der Präparate, die bis 4—5 Jahre dauern, wesentlich. Man übergiesst dann mit absolutem Alkohol, entfernt den Alkohol mit Xylol und schliesst in Xylol-Dammar ein. Wie gesagt, färben sich auf diese Weise alle färbbaren Granula des Zellleibes prachtvoll roth, die Kerne erscheinen gelbgrau und anscheinend homogen.

Um die granuläre Struktur der Kerne darzustellen, hat Altmann ebenfalls eine Reihe von Methoden ausgearbeitet, aber leider nur stückweise publicirt. Die eine dieser Methoden ist insofern eine universelle, als sie sämmtliche Zelltheile in einer unerreichten Vollkommenheit fixirt, also sowohl die Granula des Zellleibes als die des Kernes zur Darstellung

* Zur Erzielung eines lebhaft rothen Farbtones eignet sich ausgezeichnet ein von Dahl & Cie. in Barmen bezogenes Präparat (s. a. Metzner, III, pag. 301).

bringt. Es ist dies die Methode des Gefrierens der Organstücke und des Trocknens derselben unterhalb der kritischen Temperatur. Als solche bezeichnet ALTMANN denjenigen Kältegrad, der auch im Verlaufe des Trocknens, also beim Steigen der Koncentration der im Präparat vorhandenen Lösungen, kein Aufthauen und damit kein Zusammenbacken und Schwinden der Präparate zulässt. Man muss also die Temperatur auf etwa —25° bis —30° C. konstant erhalten, bis die Präparate trocken sind, was selbst bei kleinsten Organstückchen 50—60 Stunden dauert. Das Trocknen der frischen, rasch zum Gefrieren gebrachten Präparate geschieht über Schwefelsäure im Vakuum. Sind die Stückchen vollkommen trocken, so werden sie ebenfalls im Vakuum mit geschmolzenem Paraffin durchtränkt und sind jetzt schnittfähig. Da die Präparate mit Reagentien nicht in Berührung gekommen sind, so ist die Reaktionsfähigkeit der Schnitte nach allen Richtungen hin eine sehr grosse, und ALTMANN hat an solchen Präparaten seine Fixations- und Färbungsmethoden ausprobirt. Die Schwierigkeit liegt nur darin, dass es nöthig ist, die Konstanz der tiefen Temperaturen ein paar Tage ohne Unterbrechung zu überwachen. Die ausserordentlich feinen und prägnanten granulären Kern- und Protoplasmastrukturen der Blutkörperchen von Proteus anguineus auf Taf. VI des ALTMANN'schen Hauptwerkes (I) sind durch diese Fixirung mit folgender Cyaninfärbung gewonnen worden. Die Vorbehandlung der Schnitte vor der Färbung, sowie die Technik der letzteren hat ALTMANN nicht angegeben. Die andere Darstellung der Kerngranula im ruhenden Kern wie die granuläre Zusammensetzung der Chromatinschleifen an den mitotischen Figuren, wie sie sich in I, Taf. VI, Fig. 1 und 2, sowie Taf. XXXIII, Fig. 1—15 finden, hat ALTMANN ebenfalls nur unvollkommen bekannt gegeben. Er ist dabei von der Annahme ausgegangen, dass die Behandlung osmirter Präparate, welche reducirtes Osmiummetall, bezw. dessen niedere Oxydationsstufen enthalten, mit oxydirenden Agentien eine Oxydation zu Ueberosmiumsäure herbeiführen und somit die nachträgliche Entfernung des die Färbbarkeit beeinträchtigenden Osmium gestatten soll. Sowohl von FLEMMING, als von HEIDENHAIN u. a. sind solche Reagentien, wie ozonisirtes Terpentin, Chromsäure etc., angegeben worden, ALTMANN hat Goldchlorid dazu verwendet. Es ist hier nicht der Ort, die Berechtigung dieser Annahme zu diskutiren, es soll aber wenigstens auf die Beobachtungen A. BETHE's (I) über die oxydirende Wirkung der Osmiumsäurelösungen und auf seine Resultate der Behandlung osmirter Präparate mit reducirenden Mitteln hingewiesen werden (s. Artikel Osmium). Die so behandelten Schnitte wurden dann mit Cyanin gefärbt, wodurch eine deutliche Darstellung der Kerngranula erfolgte (s. ob. cit. Tafeln aus I und III, Fig. 1 A, pag. 224). Mündliche Mittheilungen ALTMANN's an den Referenten sowohl, als Andeutungen in seinen Publikationen (III, pag. 225, I. pag. 43 u. a.) zeigen, dass die Manipulationen der Wiederoxydation sowohl als die des Färbens in viel verwickelterer Weise verliefen, als angegeben ist; ein trauriges Geschick hat ALTMANN verhindert, die Methoden in extenso zu veröffentlichen. Das Gleiche gilt, wenn auch in geringerem Maasse, von der Methode zur Darstellung des intergranulären Netzes im Zellkern. Die Fixation geschieht in einer 2,5%igen Lösung von molybdänsaurem Ammoniak mit einem Zusatze von 0,25% Chromsäure, wobei selbstverständlich darauf zu achten ist, dass nur lebendfrische, kleine Organstücke eingelegt werden. Nach 24 Stunden kommen die Präparate direct in Alkohol, und zwar zuerst in verdünnten, da absoluter Alkohol einen sehr feinen weissen Niederschlag mit Ammon. molybd. giebt. Doch kann gleich 70—80%iger Alkohol verwendet werden; dann steigend bis zu Alcoh. absol., wobei nach ALTMANN zu beachten ist, dass die Nachfixirung in Alkohol eine mehrtägige sein muss. Darauf in bekannter Weise durch Xylol-Alkohol, Xylol, Xylol-Paraffin in

Paraffin. Die Schnitte müssen sehr dünn sein, bis 1 μ herunter, um eine Auflösung der ausserordentlich dichten Struktur zu erhalten. Die Färbung geschieht mit Gentiana oder Hämatoxylin nach der Technik der gebräuchlichen Kerntinktionen. ALTMANN fügt aber auch hier hinzu, dass die Methode einmal nur an gewissen Objekten gelingt (z. B. Niere von Salamandra macul.), dass weiterhin je nach den verschiedenen Organen oder je nach dem physiologischen Zustande des gleichen Organs die Chromsäurezusätze modificirt werden müssen, und endlich, dass die Färbung mit Gentiana oder Hämatoxylin nicht so deutliche Bilder liefert als die mit anderen Kernfarbstoffen, wobei man entweder in der Weise der Successivfärbungen mehrere solche Farben auf einander wirken lässt, oder sie durch Jod, Anilin und andere Reagentien beeinflusst. Aber auch hier fehlt jede nähere Angabe über das Wie der Technik oder über die Art der verwandten Farben (III, pag. 224/225).

Für die Darstellung des granulären Aufbaues an den Kernen gewisser Zellen (Spermatocyten von Salamandra macul.) eignet sich sehr gut auch eine von dem Referenten (II u. III) angegebene Methode. Sie theilt mit den letzterwähnten von ALTMANN den Uebelstand, dass sie sich nur für gewisse Objekte eignet.

Die Präparate (Hoden) werden lebendfrisch eingelegt in eine gesättigte Lösung von Osmium in 1,5 $^0/_0$ ClNa-Lösung, der $^1/_8$ Vol. gesättigter Kalibichromatlösung zugemischt ist. Zu 12 Ccm. dieser Mischung (s. III, pag. 300) werden IV—VI gutt. rauchender Salpetersäure zugesetzt. In dieser Mischung verweilen die Stücke 15—20 Minuten, um dann für 24—36 Stunden in eine gleiche Osmiumbichromatlösung, doch ohne Salpetersäurezusatz zu gelangen. Das von HERMANN (I) empfohlene Durchstechen der frischen Hoden mit Nadeln behufs leichterer Durchdringung ist auch hier zu empfehlen, da ein Zerschneiden nach den vom gleichen Autor entwickelten Gründen nicht thunlich. Die Präparate werden dann in fliessendem Wasser gründlich ausgewaschen, in steigendem Alkohol entwässert und durch Xylol-Alkohol, Xylol, Xylol-Paraffin in Paraffin von 58—59° C. Schmelzpunkt eingebettet.

Auch hier ist es nöthig, dünne Schnitte von 1,5—1,0 μ anzufertigen, um die sehr dicht gelagerten Elemente der Chromatinschleifen, der Gegenpolkegel, der Doppelkegel des Zwischenkörpers etc. erkennen zu können.

Die Färbung geschieht ganz wie oben geschildert nach ALTMANN mit Anilin-Säurefuchsin und nachfolgender Pikrinalkohol-Differenzirung. Es sind dann nicht nur alle granulären Elemente der verschiedenen mitotischen Stadien gefärbt, sondern auch die Polkörperchen und die Spindelfibrillen. Insofern ist die Methode der ALTMANN'schen Cyaninfärbung überlegen, wie die Figuren 1—15 der Tafel 33 seines Hauptwerkes (I) zeigen. Die Methode giebt auch ausgezeichnete Bilder der Mitosen an Darmepithelien etc., doch ist sie hier nicht genügend, um mit Sicherheit den granulären Bau der Chromatinschleifen zu zeigen, und vor allen Dingen versagt sie hier für die Bilder des ruhenden Kerns sowohl als für manche Uebergangsstadien. Sie zeigt hier, mit Ausnahme der intensiven Färbung der Spindelfibrillen nicht mehr als die mit FLEMMING'S, HERMANN'S Gemisch erhaltenen Bilder.

Die Darstellungen der Granula im lebenden Gewebe durch Methylenblau (OSC. SCHULTZE) durch Neutralroth (ARNOLD, EHRLICH u. a.) werden an anderen Stellen dieses Werkes behandelt.

Litteratur: ALTMANN I. (Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen. II. Aufl., Leipzig 1894), II. (Studien über die Zelle. I. Heft, Leipzig 1886), III. (Arch. Anat. 1892), IV. (Ebenda 1889), V. (Verh. Anat. Ges. Wien 1892), VI. (Verh. Anat. Ges. Göttingen 1893), VII. (Festsch. f. LUDWIG 1887), VIII. (Arch. Anat. 1896), IX. (Ebenda 1897), X. (Ebenda 1889), XI. (Ebenda 1893), XII. (Ebenda 1890), BETHE & MÖNCKEBERG (Arch. Mikr. Anat., Bd. 54, 1899), EHRLICH (Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes. Berlin 1891), FISCHER (Protoplasma 1899), HERMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1891), VON KUPFFER (Sitz. Ak. Wiss., München 1883), METZNER I. (Arch. Anat. 1890), II. (Arch. Physiol. 1894), III. (Zeit. wiss. Zool., Bd. 70, 1901), STARKE I. (Arch. Anat. 1891), II. (Arch. Physiol. 1895), STEINHAUS (Ebenda 1892, Suppl.).

Metzner, Basel.

Aluminiumacetat, essigsaure Thonerde, neutrales Aluminiumacetat, $Al_2(O.C_2H_3O)_6$ stellt eine stark nach Essigsäure riechende, farblose Flüssigkeit dar, die erhalten wird, indem man eine Lösung von Bleiacetat mit einer Lösung von Aluminiumsulfat mischt oder Thonerdehydrat in Essigsäure löst. Die Lösung zersetzt sich bei höherer Temperatur unter Abspaltung von Essigsäure und Bildung unlöslicher basischer Salze. Der officinelle Liquor Aluminii acetici wird dadurch erhalten, dass man in eine Lösung von Aluminiumsulfat in Essigsäure Calciumkarbonat einträgt. Er soll 7—8% basisches Aluminiumacetat enthalten, reagirt sauer und riecht schwach nach Essigsäure. Beim Stehen an der Luft und beim Erwärmen scheidet sich basisches Aluminiumacetat aus.

Die auf verschiedene Weise hergestellten Aluminiumacetate werden in der technischen Färberei in ausgedehnter Weise unter dem Namen Rothbeize vor allem im Baumwollendruck verwendet. Die käuflichen Rothbeizen enthalten neben Aluminiumacetat und Aluminiumsulfat auch noch Aluminiumsulfoacetat. Vor allem dienen sie zum Rothfärben mittels Alizarin in der Türkischrothfärberei.

Ebenso wie der Alaun bildet auch das Aluminiumacetat mit Hämatoxylin Lacke. So beizt z. B. Wolters Schnitte vom Nervensystem, die nach Kultschitzky fixirt sind, 24 Stunden in einer Mischung von 4 Theilen einer 8%igen Lösung von Aluminiumacetat und 1 Theil einer 10%igen Lösung von Chlorvanadium. Dann färbt er 24 Stunden in essigsaurem Hämatoxylin (½%iges Hämatoxylin in 2%iger Essigsäure). Es bildet sich also hier Thonerde-Vanadium-Hämateïn.

Litteratur: Wolters (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 7, 1891).

Aluminiumchlorid, Al_2Cl_6, weisse, krystallinische Masse, löst sich zu 25% in kaltem Wasser, zu 50% in Alkohol und ist auch in Aether etwas löslich. Der officinelle Liquor Aluminii chlorati enthält 10% Chloraluminium.

Auch das Aluminiumchlorid wird, aber weit seltener, wie das Acetat als Beize in der technischen Färberei benutzt.

In der Mikrotechnik ist das Salz vor allem von Paul Mayer zur Herstellung seiner verschiedenen Hämateïn- und Karminlösungen verwendet worden, wie Hämacalcium, Muchämateïn, Mucikarmin etc.

Amaranth, syn. für Echtroth (Höchst).

Ameisensäure, Acidum formicum, H.COOH, kommt natürlich in den Ameisen und im Safte der Brennnesseln vor; technisch wird sie durch Erhitzen von Oxalsäure und Glycerin gewonnen. Krystallisirte, wasserfreie Ameisensäure ist eine scharf riechende, bei 99° siedende Flüssigkeit, die auf der Haut Blasen zieht, mischbar mit Wasser und organischen Solventien, wie Alkohol und Aether. Beim Erhitzen mit koncentrirter Schwefelsäure zerfallen Ameisensäure und ihre Salze in Wasser und Kohlenoxydgas: $H_2CO_2 = H_2O + CO$, welch letzteres mit blauer Flamme brennt (charakteristisch). Die officinelle Ameisensäure enthält circa 50—54% Säure. Die Salze der Ameisensäure (Formiate) sind in Wasser löslich, bis auf das Blei, Quecksilberoxydul- und Silbersalz. Die beiden letzteren färben sich beim Erwärmen, im festen Zustand, wie in wässeriger Suspension, grau bis schwarz (charakteristisch). Dieses letztere Verhalten beruht auf dem Reduktionsvermögen der Ameisensäure gegen reducirbare Schwermetallsalze und findet in der Formel der Ameisensäure: OH.COH (Oxy-Formaldehyd) ihren Ausdruck.

Erkennung der Ameisensäure: 1. Durch ihr oder ihrer Salze beschriebenes Verhalten gegen konc. Schwefelsäure, 2. durch ihr Verhalten zu ammoniakalischer Silbernitratlösung. Das gebildete Silbersalz schwärzt sich

bei Erwärmung unter Abscheidung von metallischem Silber: $2 H.COOAg = CO_2 + HCOOH + 2 Ag$.

Neuberg, Berlin.

Die Ameisensäure hat in der mikroskopischen Technik ausgedehnte Anwendung gefunden, und zwar vor allem wegen ihrer Eigenschaft, die reducirbaren Salze der Schwermetalle zu reduciren. In dieser Hinsicht dient sie bei der Vergoldung zur Reduktion des Goldchlorids, bei der Versilberung zur Reduktion des Silbernitrats.

In ihrer Wirkung auf das frische thierische Gewebe gleicht sie ausserordentlich der Essigsäure, nur wirkt sie weniger intensiv. Unter ihrer Einwirkung quillt das Gewebe stark auf und wird glasig durchsichtig. Als Fixationsmittel kann sie für sich allein kaum Verwendung finden, doch ist sie sehr wohl befähigt, die schrumpfenden Eigenschaften anderer Fixationsmittel zu paralysiren. Man hat sie so in Verbindung mit Alkohol, Chromsäure, Osmiumsäure und Kaliumbichromat als Fixationsmittel verwendet. Ihre ausserordentlich grosse Durchdringungsfähigkeit kommt dabei vortrefflich zustatten.

Amethystviolett, Tetraäthylsafraninchlorid (Kalle). Schwarzgraues Pulver, das in Wasser und Alkohol, in letzterem mit blaurother Fluorescenz, löslich ist. Mit Schwefelsäure grüne, mit Salzsäure blaue Lösung.

Von Ehrlich und Lazarus als guter basischer Farbstoff zur Herstellung neutraler Farbgemische an Stelle von Methylgrün oder Methylenblau empfohlen in folgenden Kombinationen: Orange, Amethystviolett, Methylgrün — Orange G, Säurefuchsin, Amethystviolett — Narceïn, Säurefuchsin, Amethystviolett.

Litteratur: Ehrlich und Lazarus (»Die Anämie« in Specielle Pathologie und Therapie von Nothnagel, Bd. 8, Wien 1898).

Amide, pflanzliche, siehe Asparagin.

Ammoniak, NH_3, ist ein farbloses, stechend riechendes Gas vom spec. Gew. 0,5895, das sich in Wasser, Alkohol und Aether leicht löst. Die stark alkalisch reagirende, wässerige Lösung, Liquor Ammonii caustici, Aetzammoniak oder Salmiakgeist, enthält bei 15° circa 30% Ammoniak. Die Fähigkeit des Wassers, Ammoniak zu lösen, nimmt mit der Steigerung der Temperatur ab. Durch Kochen lässt sich sämmtliches Ammoniak austreiben.

Ammoniak wird in der mikroskopischen Technik hauptsächlich in dünner wässeriger oder auch alkoholischer Lösung zum Differenziren bei verschiedenen Färbemethoden verwendet, z. B. für Methylenblau (Apáthy), Methylgrün (Balbiani), Anilinblau (Garbini), Kernschwarz (Platner) etc. Andererseits wird es benützt zur Neutralisation von gefärbten Schnitten, welche in Säuren differenzirt worden sind, wie das z. B. vielfach bei überfärbten Hämatoxylinpräparaten geschieht. Entfärbung in dünner Salz-, resp. Essigsäure und Neutralisation in Ammoniakwasser.

Ammoniak ist ein gutes Lösungsmittel für Fette und fettartige Körper, z. B. für das Myelin, das auch in osmirten Präparaten von Ammoniak noch gelöst wird. Früher wurde das Ammoniak in ausgedehntem Masse zur Lösung von Karmin und auch Hämatoxylin verwendet, doch sind diese Färbemittel, Ammoniakkarmin, resp. Hämatoxylin, heute durch weit bessere ersetzt.

Zu erwähnen wäre noch, dass Bethe ammoniakalischen Alkohol verwendet bei seinen Fibrillenmethoden, um die Färbbarkeit der Nisslschollen aufzuheben.

Ammoniak, karminsaures, siehe Karmin.

Ammoniakalaun siehe Alaune.

Ammoniakalisches Karmin siehe Karmin.

Ammoniumbichromat und **Ammoniummonochromat** siehe Chromsaure Salze.

Ammoniumchlorid, Chlorammonium, Salmiak, Ammonium chloratum, $NH_4 Cl$. Weisses krystallinisches Pulver. In Wasser lösen sich bei 10° 32,84%, bei 20° 37,28%, bei 100° 72,8%. In absolutem Alkohol unlöslich. Die wässerige Lösung reagirt neutral, nach längerem Stehen aber sauer durch Bildung freier Salzsäure.

Als indifferentes Zusatzmittel für manche Färbe- und Fixationslösungen an Stelle von Kochsalz benutzt, z. B. von Lavdowsky zu $^1/_{10}$—$^1/_{20}$% zu Methylenblaulösungen zugesetzt für vitale Färbung. An Stelle von Ammoniumchlorid verwendet er auch Ferrum ammonio-chloratum.

Ammoniummolybdat, Ammon. molybdaenicum $(NH_4)_6 Mo_7O_{24}$ + + 4 H_2O, wird aus dem natürlich vorkommenden Molybdänglanz und Gelbbleierz dargestellt. Farblose, sechsseitige Prismen oder krystallinische Krusten, die beim Erhitzen unter Abspaltung von Ammoniak Molybdänsäureanhydrit liefern. In Wasser leicht löslich.

Von Krause in 5%iger Lösung als Macerationsmittel für verschiedene Gewebe empfohlen.

Altmann benutzt eine 2,5%ige wässerige Lösung in Verbindung mit 0,25%iger Chromsäure als Fixationsmittel zur Darstellung der Granula des Zellkerns (vergl. Altmann'sche Methoden).

Seine Hauptbedeutung aber hat das Salz durch die Arbeiten von Bethe erhalten, der es einmal als Fixationsmittel für Methylenblaupräparate und dann in seinen Methoden zur Darstellung der Fibrillen in den Nervenzellen verwendet. (Näheres siehe Methylenblau und Nervenzellen, Fibrillen der.)

Litteratur: Krause (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), Altmann (Arch. Anat. Phys. Anat. Abth., 1892).

Ammoniumpikrat, $C_6 H_2 (NO_2)_3 ONH_4$, bildet leicht lösliche gelbe Nadeln und entsteht durch Neutralisation von Pikrinsäure mit kohlensaurem Ammoniak.

Von Dogiel zur Fixation von Methylenblaupräparaten empfohlen und seit dieser Zeit viel benutzt auch zur Fixation anderer Anilinfärbungen, z. B. Methylviolett. (Näheres siehe Methylenblau.)

Bethe setzt der koncentrirten wässerigen Pikrinsäure auf 3 Theile 1 Theil koncentrirtes wässeriges Ammoniumpikrat zu und fixirt damit die Ganglien von Astacus und Carcinus.

Litteratur: Mayer S. (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), Bethe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900).

Ammoniumvanadinat, das Ammoniumsalz der Metavanadinsäure, $NH_4 VO_3$, bildet eine weisse, krystallinische, in Wasser lösliche Masse.

Von Mandelin als Reagens auf Alkaloide empfohlen. Man bereite sich eine Mischung von 96 Theilen koncentrirter Schwefelsäure und 36 Theilen Wasser und löse darin das Salz zu 1‰—1%.

Ueber die Verwendung des Salzes zur Vergoldung und zur Hämatoxylinfärbung siehe dort.

Amnionflüssigkeit, als indifferente Zusatzflüssigkeit neben Humor aqueus vielfach empfohlen. Man gewinnt sie in grösserer Menge am besten aus der Tracht eines grossen Säugers, am besten der Kuh. Der Uterus wird angestochen mit einem grossen gekrümmten Troicart und die auslaufende Flüssigkeit eventuell in sterilisirten Gefässen aufgefangen. Mit sterilen Instrumenten und in sterilen Gefässen aufgefangen, hält sich die Flüssigkeit sehr lange. Man kann ihr auch zur Haltbarmachung Jod in Sub-

stanz oder in Form der Jodtinktur zusetzen und erhält dann das MAX SCHULTZE'sche Jodserum, ein geschätztes Macerationsmittel.

Das Amnionwasser enthält ungefähr 1% feste Bestandtheile, darunter circa 1/4% Eiweiss, ferner Spuren von Schleim, Globulin, Traubenzucker, Harnstoff und Kreatinin, von anorganischen Salzen Chlornatrium und phosphor- und schwefelsauren Kalk.

Amoeben siehe Protozoen siehe auch Protoplasmaströmung.

Amphioxus. Man kann die ja ziemlich kleinen und dünnen Thiere ganz gut in toto fixiren oder sie mit dem Rasiermesser in mehrere Stücke zerlegen. Als Fixationsmittel eignet sich vor allem Sublimat und seine Gemische: Koncentrirte Sublimatlösung in Seewasser oder 0,6% Chlornatrium, Pikrinsublimat, Pikrinschwefelsäure, Perényi (JOSEPH), Pikrinsublimatessigsäure (SOBOTTA), auch 10%ige Salpetersäure, 10%iges Formol, HERMANN'sche Flüssigkeit ergeben recht gute Resultate.

ROHDE fixirt zum Studium der Nervenzellen die Thiere in Alkohol, Osmiumsäure oder koncentrirtem Sublimat.

BOVERI verwendet zum Studium der Nierenkanälchen gleiche Theile koncentrirter wässeriger Pikrinsäure und 10%ige Salpetersäure als Fixativ.

Litteratur: JOSEPH (Arb. Zool. Inst. Wien, Bd. 12, 1900), SOBOTTA (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), ROHDE (SCHNEIDER's Beitr., Bd. 2, 1888), BOVERI (Zool. Jahrb., Bd. 5, 1892).

Amylalkohol. Alcohol amylicus. Fuselöl. $C_5H_{11}OH$, entsteht als Nebenprodukt bei der Darstellung des Aethylalkohols aus Kartoffeln und stellt eine farblose, stark lichtbrechende Flüssigkeit von unangenehmem Geruch und Geschmack dar. Spec. Gew. bei 15° 0,8142. Siedepunkt 130°, Brechungsexponent 1.407. In Wasser ist der Amylalkohol nur sehr wenig löslich, ungefähr 2%, mit Alkohol, Aether und Xylol mischt er sich in jedem Verhältniss. Gewöhnlich ist der käufliche Amylalkohol mit Pyridin verunreinigt, das sich durch Schütteln mit verdünnter Salzsäure entfernen lässt.

Da der Amylalkohol noch kleine Mengen Wasser aufzunehmen vermag, sich mit Xylol mischt und Celloidin gar nicht angreift, so ist er an Stelle von ätherischen Oelen oder Karbolxylol empfohlen worden, um Celloidinschnitte aus 90—95%igem Alkohol in Xylol zu übertragen.

Auch in der vielfach als Reduktionsmittel benutzten PRITCHARD'schen Mischung ist er enthalten, sie besteht aus 1 Theil Amylalkohol, 1 Theil Ameisensäure und 98 Theilen Wasser.

Amylnitrit, Amylium nitrosum. C_5H_{11}—O—NO. Farblose Flüssigkeit, die beim Stehen gelblich wird, von nicht unangenehmem fruchtartigen Geruch und brennendem Geschmack, in Wasser kaum, mit Alkohol und Aether in jedem Verhältniss löslich. Spec. Gew 0,87—0,88. Siedepunkt 97—99°.

Amylnitrit findet in der praktischen Medicin vielfach Verwendung, die auf seiner gefässerweiternden Wirkung beruht. Aus diesem Grunde ist es auch in der Mikrotechnik von OVIATT und SARGENT verwandt worden, und zwar in der Injektionstechnik in der Weise, dass die Thiere mit einem Gemisch von Amylnitrit und Aether betäubt und dann durch Einathmung von Amylnitrit getödtet werden. Bevor dann die eigentliche Injektionsmasse eingespritzt wird, injicirt man physiologische Kochsalzlösung mit etwas Amylnitrit.

Litteratur: OVIATT und SARGENT (St. Louis Med. Journ. 1886 und Journ. Roy. Micr. Soc. 1887). *Mosse*, Berlin.

Amylodextrin siehe Stärke.

Amyloidentartung. Unter Amyloidentartung versteht man die Ablagerung eines hyalinen, zu den Eiweisskörpern gehörigen Stoffes in den Geweben. Dieser Stoff ist durch bestimmte optische, chemische und färberische Eigenthümlichkeiten gekennzeichnet.

Man unterscheidet allgemeine und lokale Amyloidentartung (besser Amyloidentartung aus allgemeinen und aus lokalen Ursachen). Die allgemeine Amyloidentartung findet sich bei solchen Krankheiten, die mit schweren Eiweissverlusten verbunden sind: 1. allen langwierigen, chronischen Eiterungen, gleichviel, wo ihr Sitz ist und um welche besondere Art von Eiterung es sich handelt, daher am häufigsten *a)* bei chronischer ulceröser Lungen-, Darm- und Knochentuberkulose, *b)* bei Aktinomykose, *c)* bei ulcerirenden Karcinomen (besonders Magen-, Darm-, Gebärmutter- und Speiseröhrenkrebsen), *d)* bei zerfallenden Sarkomen, *e)* bei chronischer Dysenterie; 2. bei chronischer Syphilis (auch solcher, die ohne Eiterungen verläuft); 3. bei chronischer Nierenentzündung. 4. Bei Malariakachexie; 5. bei Leukämie und Pseudoleukämie; 6. bei chronischer Anämie. — Das lokale Amyloid findet sich in hyperplastischen bindegewebigen Neubildungen der Augenbindehaut, der Nasen-, Kehlkopf-, Luftröhren- und Bronchialschleimhaut, der Zunge, Lunge, des Darms und des Herzens, ferner in sarkomatösen und endothelialen Neubildungen der Zunge, Lymphknoten, der Speicheldrüsen, sehr selten in epithelialen Neubildungen (Uteruspolyp, Karcinomen). — Die Ablagerungsstätte der Amyloidsubstanz ist ausschliesslich die Zwischensubstanz der Gewebe, nicht der Zellleib. In den seltenen Fällen, wo Amyloid im Leib von weissen Blutkörperchen und Riesenzellen gefunden wurde (LEBER, LUBARSCH, KOCKEL), war es dort nicht entstanden, sondern zum Transport oder zur Resorption von ihnen aufgenommen.

Das Amyloid tritt meist in Form glänzender Balken und Knollen, sowie verzweigter Wülste und kaktusartiger Gebilde auf; es ist optisch durch Glanz und Durchsichtigkeit ausgezeichnet, chemisch durch die Unlöslichkeit in Wasser, Alkohol und Alkalien, Schwerlöslichkeit in koncentrirten Säuren und grosse Widerstandsfähigkeit gegenüber der Magenverdauung und der Fäulniss. Nach den neueren Untersuchungen KRAWKOW's ist das Amyloid eine Verbindung von Chondroitinschwefelsäure mit Eiweisskörpern. Seine Zusammensetzung ist C 48.86–50,38%, H 6.65–7,02%, N 13.79–14.07%, S 2,65–2.89%, O 25,6–28.0%.

Von allen übrigen hyalinen Stoffen unterscheidet sich das Amyloid durch seine färberischen Eigenthümlichkeiten. Alle Reaktionen, sowohl die Jodreaktionen wie die Färbungen mit Anilinfarbstoffen, fallen am besten am nicht gehärteten Material aus. Es empfiehlt sich am meisten, Gefriermikrotomschnitte zu benutzen. Doch lassen sich alle Reaktionen auch an gehärteten Stücken vornehmen, nur ist hier oft der Farbenton kein so scharfer und glänzender wie bei ungehärtetem Material. Zur Härtung empfiehlt sich am meisten Alkohol, Formol, Formol-MÜLLER, Sublimat, weniger Chromsäuregemische, von denen noch die ZENKER'sche Flüssigkeit am empfehlenswerthesten ist. Zur Einbettung ist Celloidin vorzuziehen, da mitunter an Paraffinpräparaten die Reaktion ganz versagen kann oder wenigstens nicht sehr scharf ausfällt. Am besten ist es aber, von den in Formol etwa 2 Tage gehärteten Objekten Gefriermikrotomschnitte anzufertigen.

Die Jodmethoden. Die Schnitte werden aus destillirtem oder abgekochtem Wasser in dünne Jodjodkalilösungen überführt (Jod 1,0, Jodkali 2.0, Wasser 300,0), wo sie, je nach der Dicke der Schnitte, 1—10 Minuten verbleiben. Darauf mehrmaliges Auswaschen in Wasser und Untersuchen in Wasser, Glycerin oder Gummischleim. Die amyloiden Theile erscheinen dunkelbraunroth (mahagonibraun), das übrige Gewebe strohgelb. Ganz ausnahmsweise kann das Amyloid auch einen grünlichen Farbenton annehmen. Eine Verwechslung mit Glykogen ist anzuschliessen 1. durch die weiteren Reaktionen (Jodschwefelsäurereaktion) und Färbungen, 2. durch die Form und Ablagerungsstätte des Amyloids (Amyloid: in Wülsten und Strängen fast nie in den Zellen; Glykogen: in Kugel-, Körnchen- und Schollenform, oft im Zellleib), 3. durch die Löslichkeitsverhältnisse und das Verhalten zum Speichel. — Die Jodreaktion schwindet in Wasser, Glycerin und Glycerinleim meist nach einigen Stunden, hält sich in Gummischleim etwas länger. Bei Anwendung einer der Jodhämatoxylinmethoden LUBARSCH's (siehe unter Glykogen) kann man Balsampräparate herstellen, in denen die Jodreaktion einige Tage Bestand hat. Die dauerhaftesten und sehr klare Präparate erhält man bei Anwendung der LANGHANS'schen Glykogenmethode, die man nach LUBARSCH am besten folgendermassen ausführt:

1. Färbung der Schnitte in alkoholischer Karminlösung nach P. Mayer.

2. Ueberführen in Lugol'sche Lösung, 5—10 Minuten.

3. Rasches Entwässern in einem Gemisch von Alcohol absolut. 4,0 und officin. Jodtinktur 1,0, Abtupfen mit Closetpapier.

4. Aufhellen und Konserviren mit Origanumöl.

Um das Verdunsten des Oels zu verhindern, umgiebt man die Deckgläser mit einem Rand von Paraffin und Siegellack. — Die Reaktion hält sich etwa 6 Monate.

Die Jodschwefelsäurereaktion. Man bringt die Schnitte nach Anstellung der Jodreaktion auf circa 2—5 Minuten in 1%ige Schwefelsäure und untersucht in Wasser, Glycerin oder Gummischleim. Die vorher braunrothen Partien verändern nun ihre Farbe, indem sie entweder nur gesättigter roth erscheinen oder blau, blaugrün, violett, schmutzigdunkelgrün oder fast schwarz werden. Diese Farbenveränderungen treten aber keineswegs gleichmässig an allen amyloiden Theilen auf, sondern, wie es scheint, nur an den am längsten entarteten, so findet man z. B. in der Niere öfter, dass nur an den Glomerulischlingen eine Blau- oder Grünfärbung eintritt, während die Arteriolae rectae mahogonibraun bleiben.

An dem rein dargestellten Amyloid fällt die Jodreaktion nicht stets positiv aus (Krawkow). Es hängt dies von der physikalischen Beschaffenheit ab, da das in Lösung übergeführte Amyloid die Jodreaktion nicht giebt.

Die Färbungen mit Anilinfarbstoffen. Die Färbung mit Anilinfarbstoffen hat den Vortheil, dass neben dem äusserst scharf metachromatisch gefärbten Amyloid, die Zellkerne und der Zellleib deutlich hervortreten und so eine viel genauere Betrachtung der Beziehungen des Amyloids zu den einzelnen Gewebseinheiten möglich ist. Auch sind die Präparate viel dauerhafter und halten sich bei geeigneter Konservirung über 15 Jahre.

Die Färbung mit Methylgentianaviolett oder Methylgrün.

1. Die Schnitte werden in 2%ige wässerige Farblösungen auf ½ bis 20 Minuten gebracht.

2. Abspülen in 1—2%iger Essigsäure. Man wechselt die Lösung öfter, so lange noch reichlich Farbwolken abgehen. Im allgemeinen dauert die Procedur nicht länger wie 2—3 Minuten.

3. Sehr gründliches Abspülen und Auswaschen in öfter zu wechselndem destillirten Wasser.

Die Dauerhaftigkeit der Präparate hängt hauptsächlich von der Gründlichkeit ab, mit der die Essigsäure wieder ausgewaschen wird.

4. Abtupfen mit Fliess- oder Closetpapier; Einschliessen in dicker Lävulose- oder Zuckersyruplösung. Glycerin weniger zu empfehlen; Glycerinleim ist dagegen brauchbar, wenn auch nicht so gut wie Lävulose und Zuckersyrup.

Die Amyloidsubstanz erscheint intensiv leuchtend roth, Zellkerne blau, Protoplasma und Zwischensubstanz blassgraublau. — Ausser dem Amyloid zeigen die gleiche Metachromasie 1. Schleim; 2. manche kolloide Massen, z. B. ein Theil der kolloiden Ausfüllungen der Schilddrüsenbläschen; 3. die Mastzellengranula; 4. junges Knochen- und Knorpelgewebe. Eine Verwechslung ist ausser durch die morphologischen Verhältnisse durch Anstellung der Jodreaktionen auszuschliessen, ferner dadurch, dass die Rothfärbung meist keine intensive ist. Strittig ist es, ob die hyalinen, in Form und Lokalisation mit den amyloiden übereinstimmenden Massen, die nur die Anilinfärbung und nicht die Jodreaktionen geben, zum Amyloid gehören. Nachdem Krawkow gezeigt hat, dass das rein dargestellte Amyloid als konstanteste Reaktion die Anilinfärbung darbietet, muss die Frage wohl bejaht werden.

Sehr empfehlenswerth ist die Doppelfärbung nach Birch-Hirschfeld.

1. Vorfärben mit Bismarckbraun 5 Minuten.
2. Auswaschen in Alkohol und Uebertragen in Aq. dest.
3. Nachfärben in 0,5%iger wässeriger Gentianalösung 5 Minuten.
4. Auswaschen in 1%iger Essigsäure, bis der braune Farbenton des Vesuvins wieder hervortritt.
5. Gründliches Auswaschen im Wasser und Einschliessen in Lävulose.

Auch die von P. Mayer angegebene Methode der Schnittfärbung vor der Entparaffinirung giebt gute Resultate und ist zu empfehlen, da hierbei die Präparate in Kanadabalsam aufbewahrt werden können.

Man verfährt folgendermassen:

1. Färbung in ½%iger Gentianaviolettlösung 5—10 Minuten. Man kann auf den Objektträger aufgeklebte Schnitte benützen. Besser ist es aber, man überträgt die Paraffinschnitte direkt vom Messer in die (auf circa 40°) erwärmte Farbflüssigkeit, wo sie sich gut ausstrecken.
2. Abspülen in Wasser und Differenziren in 1%iger Essigsäure 10 bis 15 Minuten.
3. Gründliches Auswaschen in Wasser.
4. Uebertragen in zur Hälfte mit Wasser verdünnter koncentrirter wässeriger Alaunlösung. Abspülen mit Wasser.
5. Benutzt man bereits auf Objektträger aufgeklebte Schnitte, so trocknet man das Wasser sorgfältig ab oder lässt es im Brutschrank bei 40—42° verdunsten. Sind die Schnitte nicht aufgeklebt, so fängt man sie mit dem Objektträger auf und lässt das Wasser allmählich verdunsten. Darauf Paraffinentfernung durch Xylol, Einschluss in Kanadabalsam.

Auch bei der von Kantorowicz angegebenen Färbung mit Thionin können die Präparate in Kanadabalsam eingeschlossen werden, ebenso bei der Färbung mit Unna's polychromem Methylenblau. Doch sind die Farbenunterschiede lange nicht so intensiv und glänzend wie bei den übrigen Methoden.

Nach Kantorowicz färbt man die von Alkohol oder Sublimatpräparaten gemachten Schnitte in einer gesättigten, wässerigen Thioninlösung 3—5 Minuten. Abspülen in Wasser, gründliches Trocknen der Schnitte mit Fliess- oder Closetpapier. Aufhellen in Anilinxylol oder Karbolxylol. Auswaschen in Xylol. Einschluss in Balsam. — Das Amyloid erscheint hellblau bis lila, das übrige Gewebe mehr violett.

Bei der Färbung in polychromem Methylenblau wird 10—15 Minuten lang gefärbt, dann in Wasser abgespült. Darauf Eintauchen in ½%ige Essigsäure 10—20 Sekunden. Einbringen in koncentrirte, zur Hälfte mit Wasser verdünnte Alaunlösung 2—5 Minuten. Abspülen in Alcohol absolut. ½ Minute. Entwässern in absolut. Alkohol ¼—½ Minute. Aufhellen in Xylol. Einbetten.

Die von H. Stilling angegebene Färbung mit Jodgrün (24stündiges Färben in Jodgrünlösung 1 : 300 Wasser. Abspülen in Wasser. Einschliessen in Glycerin oder Lävulose) hat keine erheblichen Vorzüge vor der Färbung mit Methyl- oder Gentianaviolett.

Eine befriedigende Theorie über die Ursache der Metachromasie des Amyloids besitzen wir noch nicht. Die Thatsache, dass auch das rein dargestellte Amyloid die Reaktionen giebt, spricht dafür, dass es sich um chemische Umwandlungen handelt.

Ueber die Amyloidkörper siehe unter Corpora amylacea.

Litteratur: Birch-Hirschfeld (Festschr. f. E. L. Wagner, Leipzig 1887), Cornil (Compt. rend. 1875), Heschl (Wien. Med. Woch., 1875), Jürgens (Virch. Arch., Bd. 65, 1875), Kantorowicz (Centr. allgem. Path., Bd. 5, 1894), Krawkow (Arch. exper. Path., Bd. 40, 1899), Langerhans (Virch. Arch., Bd. 120. 1890), Lubarsch (Virch. Arch., Bd. 135 und Artikel Technik in Ergebnissen der allgemeinen Pathologie etc., Jahrg. 1, Abth. 2, 1895), Stilling (Virch. Arch., Bd. 103, 1886), Schmorl (Die pathologischen Untersuchungsmethoden, II. Aufl. 1901), Virchow (Virch. Arch., Bd. 6, 1854).

Lubarsch, Posen.

Amylum siehe Stärke.

Anethol, der Methyläther des Allylphenols, $C_6H_4(CH_5) - CH_3$, bildet farblose Blätter, die bei 21,6° schmelzen und sehr wenig in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff sind. Anethol hat aromatischen Geruch und süssen Geschmack. Das Anethol bildet einen Bestandtheil des Anisöles, ausserdem des Sternanis-, Fenchel-, Estragonöles.

Ueber seine Verwendung siehe Anisöl. — Es ist bei SCHIMMEL (Leipzig) erhältlich.

Mosse, Berlin

Anilin, Amidobenzol, $C_6H_5 . NH_2$, führt seinen Namen auf Grund der ersten bekannt gewordenen Bildungsweise aus Indigo, der im Spanischen Anil heisst. Es ist die Muttersubstanz eines ganzes Heeres von Farbstoffen, der Anilinfarben. Technisch wird es seit dem Jahre 1864 durch Reduktion des Nitrobenzols (mit Zink, Zinn, Eisen und Salz- oder Essigsäure) gewonnen:



$$C_6H_5 . NO_2 + 6H = 2H_2O + C_6H_5 . NH_2.$$

In reinem Zustande bildet Anilin eine farblose Flüssigkeit von eigenthümlichem Geruch, die im Kältegemisch krystallinisch erstarrt und bei 183° siedet. Es löst sich leicht in organischen Lösungsmitteln, aber nur wenig in Wasser (bei 12° in 31 Theilen). Spec. Gewicht 1,037 bei 0°. Brechungsexponent 1,588. An der Luft färbt sich Anilin bald dunkel. Obgleich ohne alkalische Reaktion auf Lackmus, dokumentirt Anilin seinen basischen Charakter durch die ausgesprochene Neigung zur Salzbildung und die Fähigkeit, in der Hitze Ammoniak aus seinen Verbindungen auszutreiben.

Reaktionen auf Anilin. 1. Setzt man zu einer Lösung von Anilin in konc. Schwefelsäure einige Tropfen wässeriger Kaliumbichromatlösung, so färbt sich die Flüssigkeit roth, später blau.

2. Ein Fichtenholzspahn wird intensiv gelb gefärbt.

3. Chlorkalklösung erzeugt mit wässeriger Anilinlösung eine Violettfärbung, die auf Zusatz von Schwefelammonium in Roth umschlägt.

Neuberg, Berlin.

Das Anilin ist durch EHRLICH in die Mikrotechnik eingeführt worden und dient seit dieser Zeit den mannigfachsten Zwecken. Vor allem wird es benutzt zur Herstellung von Farblösungen und hier meist in der Form des Anilinwassers. Es wird dasselbe entweder so erhalten, dass man Anilin im Ueberschuss mit destillirtem Wasser schüttelt und vor dem Gebrauch filtrirt, oder indem man 3 Ccm. Anilin in 10 Ccm. Alcohol absol. löst und mit destillirtem Wasser auf 100 verdünnt. Ein solches Anilinwasser vermag ungleich mehr Farbstoff zu lösen als destillirtes Wasser oder 10%iger Alkohol. Ausserdem besitzen die Anilinwasser-Farbstofflösungen eine höhere Färbekraft als Wasserlösungen.

Eine zweite Art der Verwendung findet das Anilin in der Färbetechnik zum Entfärben (Differenziren) überfärbter Präparate. Wie WEIGERT gezeigt hat, wird die Fähigkeit des Anilins zu entfärben durch Zusatz von Xylol gemildert, und es entstanden so die verschiedenen Anilin-Xylolgemische. Ebenso kann man, wie das in der NISSL'schen Methode geschieht, die entfärbende Kraft des Alkohols durch Zusatz von Anilin erhöhen. Andererseits hat aber auch UNNA gezeigt, dass man durch Zusatz von Säuren und Salzen zum Anilin seine differenzirende Kraft bedeutend erhöhen kann, so empfiehlt er zu diesem Zweck z. B. Zusatz von Salpetersäure (1%), Tannin (5–10%), Chlornatrium (im Ueberschuss), salzsaures Anilin (1%), Jod (1%). Man kann auch gleichzeitig einen sauren Farbstoff als Kontrastfarbe zumischen, z. B. Tannin (1%) und Eosin (1‰) oder Salpetersäure (1‰) und Pikrinsäure (1‰).

Das Anilin hat die werthvolle Eigenschaft, ähnlich wie viele stark lichtbrechende ätherische Oele oder Phenol noch eine bestimmte Menge Wasser aufzunehmen und sich auch mit Xylol in jedem Verhältniss zu mischen. Es ist deshalb in Verbindung mit Xylol von WEIGERT empfohlen worden, um Celloidinschnitte unter Umgehung des absoluten Alkohols in reines Xylol überzuführen.

Auch als Ueberführungsmittel von Alkohol in Paraffin ist es von CIAGLINSKI gerühmt worden. Es macht die Präparate weniger hart, indem es einen kürzeren Aufenthalt im starken Alkohol zulässt. Er bringt MÜLLER'sche Präparate des Rückenmarkes zunächst aus dem absoluten Alkohol für 24 Stunden in Anilin, dann 2—3 Stunden in Xylol, dann Xylol-Paraffin und Paraffin. Nach unseren Erfahrungen kann man den absoluten Alkohol dabei ganz fortlassen und direkt aus dem 95%igen Alkohol übertragen. Die Präparate werden gleichzeitig sehr stark aufgehellt.

Litteratur: UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 21, 1895), CIAGLINSKI (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 8, 1891).

Anilin, salzsaures, $C_6H_5.NH_2.HCL$, entsteht durch Sättigen von Anilin mit der äquivalenten Menge Salzsäure und bildet weisse, in Wasser leicht lösliche Nadeln.

Von UNNA dem Anilin zu 1% zugesetzt, um die differenzirende Kraft desselben zu erhöhen.

Ueber die Bildung von Anilinschwarz aus salzsaurem Anilin vergleiche Anilinschwarz.

Anilin, schwefelsaures, $(C_6H_5NH_2)_2H_2SO_4$, entsteht beim Sättigen von Anilin mit äquivalenten Mengen Schwefelsäure. Es bildet farblose Krystalle, welche sich beim Liegen an der Luft röthlich verfärben und in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich sind.

Das Anilinsulfat wird als Reagens auf Verholzung benutzt (siehe Zellmembranen, pflanzliche).

Anilinblau. Unter den im Handel vorkommenden verschiedenen Arten des Anilinblau werden die Salze des Mono , Di- und Triphenylrosanilins ($C_{20}H_{16}(C_6H_5)_3N_3$) verstanden, entweder die reinen Salze oder Mischungen derselben. Das Anilinblau R oder 2 R besteht hauptsächlich aus den Salzen der beiden ersteren, Anilinblau B—6 B ist das nahezu reine Salz des Triphenylrosanilins oder des Tritolylrosanilins. Man unterscheidet ferner die in Wasser unlöslichen Chlorhydrate der Basen als Spiritusblau und bezeichnet dann die Alkalisalze der Sulfosäuren dieses Spiritusblau als wasserlösliches Blau.

Anilinblau B—6 B, syn. Grünstichblau, Lichtblau, Bleu lumière, Alkoholblau, Spiritusblau, Bleu vert extra, Bleu de Lyon, Bleu de Paris, Feinblau, Kopalblau, entsteht durch Erhitzen von Rosanilin, reinem Anilin, Benzoesäure und Eisessig. Je nach den verschiedenen Mischungsverhältnissen erhält man verschiedene Nuancen. Reinigung mittels alkoholischer Salzsäure.

Anilinblau R oder 2 R, syn. Rothstichblau, Parmabläulich, Violettbläulich, Rothblau entsteht durch Erhitzen von Fuchsin mit Natriumacetat.

Das Anilinblau ist in Wasser schwer löslich, ebenso in Benzol, Petroleum und Aether, leichter löslich in Methyl-, Aethyl- und Amylalkohol, leicht löslich in Anilin, Phenol und Nitrobenzol. Mit Mineralsäuren giebt es blaue bis braune Niederschläge, ebenso mit Natronlauge, Ammoniak, Chlorkalk und Zinnchlorür. In der technischen Färberei färbt man Seide und Wolle in alkoholischer, mit Schwefelsäure oder Alaun versetzter Lösung unter Zuhilfenahme von Zinnchlorür und Weinstein.

Anilinblau wasserlöslich. Die unter dem Namen lösliches Blau, Bleu soluble, Nicholsonblau, Wasserblau, Alkaliblau, Chinablau, Marineblau

im Handel vorkommenden Farbstoffe stellen die Salze der Sulfosäuren des Triphenylrosanilins dar, und zwar bezeichnet man speciell das Natronsalz der Monosulfosäure als Alkaliblau, das Ammoniaksalz der Disulfosäure als Wasserblau, ausserdem kommen noch Salze der Tri- und Tetrasulfosäure vor. Mit der Zahl der eingeführten Sulfogruppen steigt im allgemeinen die Löslichkeit in Wasser, aber die Färbekraft nimmt ab. Diese Farbstoffe werden erhalten durch Erhitzen von Anilinblau mit Schwefelsäure (Sulfuriren), je nach der Höhe der Temperatur und der Art des verwendeten Anilinblaus entstehen dann die verschiedenen Farbstoffe. Sie sind sämmtlich in Wasser und Alkohol leicht löslich, geben mit Salzsäure einen blauen Niederschlag, mit Natronlauge Rothfärbung.

Das Anilinblau gehört zu den am frühesten in die Mikrotechnik eingeführten Farbstoffen, wahrscheinlich ist es zuerst von Waldeyer unter dem Namen Pariser Blau verwendet worden. Das Spiritusblau hat nur geringe Verbreitung gefunden, vor allem wird es in der Technik der Knochenfärbung verwendet, wo seine Unlöslichkeit in Wasser von Vortheil ist. (Näheres siehe bei Knochen.)

Das wasserlösliche Anilinblau erfreut sich dagegen einer grossen Verbreitung, vor allem als Plasmafarbstoff nach oder vor Kernfärbungen, zuerst wohl von Foole nach Hämatoxylin und von Duval nach Karmin benutzt. Es hat die Eigenschaft, Schleim ziemlich intensiv zu färben, doch zieht Alkohol den Farbstoff leicht wieder aus.

Auch zur Färbung der Achsencylinder, besonders in embryonalen Geweben, eignet es sich vorzüglich. Entweder benutzt man sehr dünne (1$^0/_{00}$), schwach alkoholische Lösungen und färbt vor oder nach dem Kernfärbemittel. dann Auswaschen in Wasser oder 50$^0/_0$igem Alkohol, oder man benutzt koncentrirte Lösungen und differenzirt in alkalischem Alkohol.

Eine empfehlenswerthe Methode ist die Doppelfärbung von Stroebe-Huber. Schnitte von Material aus Müller'scher Flüssigkeit werden 5 Stunden in gesättigter wässeriger Lösung von Anilinblau gefärbt, in Wasser abgespült und dann 1—2 Minuten in alkalischem absoluten Alkohol differenzirt (30—40 Tropfen 1$^0/_0$iger Kalilauge auf 30 Ccm. absoluten Alkohols). Waschen in destillirtem Wasser 10 Minuten und Färben $^1/_2$ Stunde in koncentrirter wässeriger Safraninlösung, Auswaschen in Wasser und Entwässern.

Auch zur Vorfärbung bei der Heidenhain'schen Eisenhämatoxylinmetbode und zur Dreifachfärbung mit Karmin und Bismarckbraun eignet sich der Farbstoff.

Garbini färbt Schnitte vom Magen oder Speicheldrüsen zuerst 1 bis 4 Minuten in einer Lösung von Anilinblau 1, Wasser 100, absolutem Alkohol 1—2, dann Abwaschen in Wasser und Einlegen in 1$^0/_0$iges Ammoniak. bis sie fast völlig ihre Farbe verloren haben, neutralisiren 5—10 Minuten in 0,5$^0/_0$iger Salzsäure, waschen in viel Wasser, Färben 4—5 Minuten in 0,5$^0/_0$igem wässerigen Safranin, das mit der Hälfte absoluten Alkohols verdünnt ist, dann absoluter Alkohol, Nelkenöl, Xylol, Balsam.

Galli färbt Nerven, die zuerst 20 Tage in reiner, dann noch zwei Tage in verdünnter Müller'scher Flüssigkeit gelegen haben, in wässeriger Lösung von Anilinblau, nachdem sie vorher noch $^1/_4$ Stunde in angesäuertem Glycerin gewaschen sind (2 Tropfen Eisessig auf 2 Ccm. Glycerin). Färbung 15—20 Minuten, dann Alkohol. Terpentin, Balsam. Es erscheint der Achsencylinder und die Schwann'sche Scheide gefärbt.

Bühler mischt zur Färbung von Nervenzellen gleiche Theile einer 1$^0/_0$igen wässerigen Lösung von Anilinblau und Vesuvin und ferner in denselben Verhältnissen Rubin S und Safranin. Kurz vor dem Gebrauch wird 1 Theil der ersten Lösung mit 2 Theilen der letzteren gemischt und mit dem vierfachen Volum Wasser verdünnt. Färbung 24 Stunden.

Mallory verwendet das Anilinblau in Verbindung mit Säurefuchsin und Orange zur Bindegewebsfärbung nach Sublimat oder Zenker. Färbung der Schnitte 3 Minuten in 0,1%iger Lösung von Säurefuchsin, Auswaschen in Wasser, dann Einlegen in 1%ige Lösung von Phosphormolybdänsäure für einige Minuten, Auswaschen in zweimal gewechseltem Wasser und Färbung 2 Minuten oder länger in Anilinblau 0,5, Orange G 2,0, Oxalsäure 2,0, Wasser 100, Auswaschen in Wasser, 95%iger Alkohol, Origanumöl, Balsam. Amyloid und Schleim blau, Kerne, Protoplasma, Neuroglia und Achsencylinder roth, Erythrocyten und Markscheiden gelb.

Litteratur: Ranvier (Arch. de Physiol., 1875), Foole (Quart. Journ. Micr. Sc. 1875), Duval (Journ. de l'anat., 1876), Waldeyer (Zeit. rat. Med., Bd. 20, 1863), Huber (Journ. Morph. Bd. 11, 1896), Garbini (Zool. Anz., Bd. 9, 1886), Bühler (Verh. Phys. med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 31. 1898), Mallory (Journ. exper. Med., Bd. 5, 1900).

Anilin blue black siehe Blue black.

Anilinfarben. Mit diesem Namen bezeichnet man einem allgemeinen Sprachgebrauch zufolge diejenigen Farbstoffe, welche als Produkt industrieller Thätigkeit in den Handel kommen im Gegensatz zu den von der Thier- und Pflanzenwelt gelieferten Farbendroguen. Die Industrie der künstlichen Farbstoffe ist im Anfang der Sechzigerjahre des neunzehnten Jahrhunderts zuerst in Frankreich und England begründet und sehr bald auch nach Deutschland und der Schweiz verpflanzt worden. Sie hat sich namentlich in Deutschland zu ausserordentlicher Grösse und Bedeutung entwickelt. Da die ersten künstlich dargestellten Farbstoffe aus Anilin und aus Gemischen desselben mit seinen Homologen, welche in der Technik ebenfalls als »Anilin« bezeichnet werden, hergestellt wurden, so erhielt die ganze Gruppe dieser industriellen Erzeugnisse den Namen der Anilinfarbstoffe, welcher heute kaum mehr als zutreffend erscheint, nachdem die Industrie längst auch andere Rohmaterialien in den Kreis ihrer Thätigkeit einbezogen und die oben erwähnten Gemische zum grössten Theil durch einheitliche Ausgangsmaterialien ersetzt hat. Man pflegt daher heute vielfach die Bezeichnung »Anilinfarbstoffe« durch den Ausdruck »Synthetische Farbstoffe« zu ersetzen, durch welchen indessen der Gegensatz zu den von der Natur gelieferten Farbstoffen ebenfalls nicht streng logisch zum Ausdruck gebracht wird, da es der Industrie seit längerer Zeit gelungen ist, viele der natürlichen Farbstoffe synthetisch in solcher Weise aufzubauen, dass die künstlichen Erzeugnisse mit den gleichartigen natürlichen in erfolgreichen Wettbewerb auf dem Weltmarkte treten können. Die Synthese sämmtlicher von der Thier- und Pflanzenwelt hervorgebrachter Farbstoffe ist nur noch eine Frage der Zeit, und die Entscheidung darüber, welche derselben auch in Zukunft ihren natürlichen Quellen entnommen und welche als Produkte der chemischen Industrie künstlich hergestellt werden sollen, wird lediglich von wirthschaftlichen Gesichtspunkten abhängen.

Aus dem Vorstehenden ergiebt es sich, dass ein scharfer, auf wissenschaftlichen Merkmalen beruhender Unterschied zwischen den natürlichen und künstlichen oder Anilinfarbstoffen nicht besteht. In der That verdanken beide Körpergruppen ihre sie zu gleicher Verwendung befähigende Eigenart den gleichen, in ihrer chemischen Konstitution begründeten Gesetzmässigkeiten, welche heute ziemlich vollständig erkannt sind.

Die Aminbasen der aromatischen Reihe, deren erstes und einfachstes Glied das Anilin ist, zeigen eine grosse Neigung unter dem Einflusse der verschiedensten Reagentien in Farbstoffe überzugehen. Es war die genauere Untersuchung dieser etwa um die Mitte des neunzehnten Jahrhunderts uns zugänglich gewordenen Substanzen, welche denen, die sich mit ihr befassten, die ersten Anilinfarbstoffe (Mauveïn, Fuchsin und Derivate desselben) in die Hände spielte. Da diese ältesten Farbstoffe irgend welche Analoga unter

den natürlichen Erzeugnissen der Thier- und Pflanzenwelt nicht besitzen, da sie ferner an Glanz und Reinheit der Nuance die Naturprodukte weitaus übertrafen, so schienen sie zu denselben in scharfem Gegensatz zu stehen. Dieser Gegensatz zeigte sich auch in ihrer im Vergleich zu den geschätzteren Naturprodukten grösseren Vergänglichkeit. Man findet daher noch heute vielfach die Ansicht verbreitet, die Anilinfarbstoffe seien zwar glänzender, aber auch viel vergänglicher als die natürlichen und in diesem für die Verwendung der Farbstoffe so hochwichtigen Unterschiede sei der Gegensatz beider Körperklassen begründet. Auf das Irrthümliche dieser Auffassung kann nicht nachdrücklich genug hingewiesen werden. Die weitere Erforschung der Farbstoffe hat mit voller Sicherheit gezeigt, dass der Glanz der Nuance keinerlei Beziehungen zu der Empfindlichkeit gegen Licht und andere Agentien besitzt. Es giebt unter den künstlichen Farbstoffen ganz ebenso wie unter den natürlichen glänzende und trübe, echte und vergängliche. Dagegen gilt für alle Farbstoffe die Regel, dass nur im Zustande völliger Reinheit der volle Glanz der Nuance eines Farbstoffes in Erscheinung tritt und dass höchst geringfügige Verunreinigungen ausreichen, um die erzielte Färbung ganz erheblich zu trüben. Gerade auf der Gegenwart solcher geringfügiger und sehr schwer zu beseitigender Verunreinigungen beruht der geringe Glanz vieler mit natürlichen Farbdroguen hergestellter Färbungen. Den synthetisch hergestellten Farbstoffen fehlen in den meisten Fällen von Haus aus diese trübenden Verunreinigungen, wodurch sich in vielen Fällen die grössere Frische und Reinheit der mit ihnen hergestellten Färbungen erklärt. Es mag indessen hinzugefügt werden, dass die glänzendsten aller überhaupt bekannten Farbstoffe sich schliesslich unter den synthetisch aufgebauten gefunden haben.

Die industrielle Synthese der Farbstoffe war während der ersten 20 Jahre ihres Bestehens auf empirische Methoden angewiesen, welche indessen ein ziemlich reiches Material an brauchbaren Produkten lieferten. In dem Masse, wie diese chemisch genauer durchforscht und ihrer Konstitution nach ergründet wurden, erwuchs die Möglichkeit, die Gesetzmässigkeiten zu erkennen, welche zwischen der Konstitution und den Eigenschaften der Farbstoffe bestehen, und damit die Bedingungen festzustellen, welche erfüllt sein müssen, wenn eine chemische Verbindung den Charakter eines Farbstoffes annehmen soll. Diese Gesetzmässigkeiten sind in der von Otto N. Witt im Jahre 1876 aufgestellten Theorie der Farbstoffe zusammengestellt, welche gegenwärtig allgemein angenommen ist und nicht nur der planmässigen Synthese neuer Farbstoffe zugrunde gelegt wurde, sondern auch das jetzt allgemein giltige Klassifikationsprincip der Farbstoffe geworden ist.

In den Sprachen aller civilisirten Völker wird der Begriff des Farbstoffes in scharfen Gegensatz gestellt zu demjenigen des farbigen Körpers, obgleich es vom rein physikalischen Standpunkte aus schwierig ist, beide Begriffe getrennt zu halten. Die Chemie hält die sprachliche Unterscheidung aufrecht, indem sie sich auf technologische Gesichtspunkte stützt und von den Farbstoffen verlangt, dass man mit denselben färben kann. Diese Forderung bedingt in erster Linie eine ganz erhebliche Intensität der Eigenfärbung des Farbstoffes, ausserdem aber noch die Fähigkeit, aus wässeriger Lösung auf die zu färbenden Materialien, als welche in erster Linie die verschiedenen Arten der Gespinnstfasern in Betracht kommen, überzugehen und sich mit denselben waschecht zu verbinden; ein Vorgang, den man als »Färbeprocess« bezeichnet. Ueber die Theorie dieses letzteren siehe unter »Färben«. Ueber die Bedingungen, unter welchen organische Verbindungen zu Farbstoffen werden, giebt die Witt'sche Farbstofftheorie Auskunft, welche sich in den nachfolgenden Sätzen kurz zusammenfassen lässt.

Alle Farbstoffe sind Abkömmlinge von Kohlenwasserstoffen und eine überwältigende Mehrheit derselben sind Derivate von Kohlenwasserstoffen der aromatischen Reihe. Fast alle diese Kohlenwasserstoffe sind an sich farblose Körper, erst in neuerer Zeit sind einige wenige von Haus aus farbige Kohlenwasserstoffe bekannt geworden, welche letzteren an sich schon einen solchen Bau besitzen, dass sie ohne weiteres zu den sogleich zu erwähnenden Chromogenen gehören.

Die Farbstoffnatur des Abkömmlings eines aromatischen Kohlenwasserstoffes ist an das gleichzeitige Vorhandensein zweier eigenartiger Atomkomplexe im Molekül desselben gebunden, welche als »chromophore« und »auxochrome« Gruppen bezeichnet werden.

Die chromophoren Atomkomplexe sind solche, welche erfahrungsgemäss überall da, wo sie auftreten, Farbstoffbildung veranlassen. Ihr Eintritt in einen Kohlenwasserstoff macht diesen allerdings noch nicht zum Farbstoff, wohl aber zum Chromogen, d. h. zu einer Substanz, welcher nur noch die auxochrome Gruppe eingefügt zu werden braucht, um sofort die Farbstoffnatur des Körpers in Erscheinung treten zu lassen. In den Chromogenen ist somit der Farbstoffcharakter latent vorhanden. Diese Thatsache macht sich mitunter durch eine mässige Eigenfärbung der Chromogene bemerkbar. doch ist dies nicht immer der Fall. Man kennt bis jetzt einige zwanzig chromophore Gruppen und es unterliegt keinem Zweifel, dass die Zahl derselben in dem weiteren Verlauf der chemischen Forschung noch vergrössert werden wird. Das Gesetz der Chromophorie ist ausnahmslos, d. h. es ist kein Fall bekannt, in welchem eine Substanz, welche eine der als chromophor erkannten Gruppen mit Sicherheit enthält, sich nicht als ein Chromogen erwiesen hätte. Mit Recht sind daher die chromophoren Gruppen als Eintheilungsmerkmal für die Farbstoffe adoptirt worden. Während ältere Veröffentlichungen über Farbstoffe dieselben nach dem rein zufälligen Merkmale der Nuancen klassificiren, unterscheiden die heutigen Lehrbücher dieses Gegenstandes eine Reihe von natürlichen Farbstofffamilien, deren Angehörige jeweilig eine und dieselbe chromophore Gruppe enthalten.

Die auxochrome Gruppe verwandelt durch ihren Eintritt in das Molekül eines Chromogens dieses letztere in einen Farbstoff. Allen auxochromen Gruppen ohne Ausnahme kommt die Fähigkeit zu, den bei den Chromogenen gewöhnlich vorhandenen neutralen Charakter zu stören und sie in Substanzen von entweder basischem oder saurem Charakter zu verwandeln. Bei der ersten Aufstellung der Witt'schen Farbstofftheorie wurde die Annahme gemacht, dass in dieser Fähigkeit allein die Wirkung der auxochromen Gruppen begründet sei, diese letztere wurde daher nicht als solche besonders bezeichnet, sondern es wurde lediglich der Eintritt einer salzbildenden Gruppe in das Molekül des Chromogens gefordert, um dieses zum Farbstoff zu machen. Weitere Forschungen haben indessen gezeigt, dass die Fähigkeit der Salzbildung keineswegs zusammenfällt mit der Fähigkeit der Entwicklung der latenten Farbstoffeigenschaften eines Chromogens. Diese Erkenntniss führte zur Aufstellung des Begriffes der Auxochromie, welche bei verschiedenen salzbildenden Gruppen in verschiedenem Masse entwickelt ist. Als am stärksten auxochrom haben sich die phenolische Hydroxylgruppe, —OH, und die Amidogruppe, $—NH_2$, erwiesen. Die auxochromen Eigenschaften der letzteren werden nicht verändert, in vielen Fällen sogar erhöht dadurch, dass die in ihr enthaltenen Wasserstoffatome durch organische Radikale ersetzt werden. Dagegen wirkt der Uebergang der Amidogruppe in die Ammoniumgruppe, soweit derselbe nicht durch Halogenwasserstoff, sondern durch die Anlagerung von Halogenalkylen herbeigeführt wird, völlig vernichtend auf die auxochromen Eigenschaften. Gewisse andere

stark salzbildende Gruppen, wie z. B. die Sulfoxylgruppe, $-SO_3H$, die Karboxylgruppe, $-CO\,OH$, die Sulfamidgruppe, $-SO_2NH-$, sind als schwach auxochrom zu bezeichnen. Die auxochromen Eigenschaften aller salzbildenden Gruppen ohne Ausnahme können dadurch latent gemacht werden, dass man sie in einer Weise beeinflusst, welche ihre Fähigkeit, Salze zu bilden, aufhebt. So wird z. B. die Amidogruppe auxochrom unwirksam durch Acetylirung, bei der Hydroxylgruppe geschieht das Gleiche durch Aetherbildung oder Veresterung. Der verschiedene Grad der Auxochromie aller dieser Gruppen scheint eine direkte Funktion ihrer Ionisationsfähigkeit zu sein, d. h. ein Farbstoff wird in umso höherem Grade seine Farbstoffnatur geltend machen, je mehr er die Neigung besitzt, in seinen Lösungen sich zu dissociiren. Dies ist ohne weiteres begreiflich, wenn man den Charakter des Färbeprocesses in Betracht zieht. (Siehe unter »Färben«.)

Sowohl für die chromophoren, wie für die auxochromen Gruppen gilt die Regel, dass sie sich häufen lassen, d. h. es ist keineswegs nothwendig, dass sie nur ein einzigesmal in dem Molekül des Farbstoffes vorhanden seien, es kann vielmehr durch ihr mehrmaliges gleichzeitiges Auftreten sehr häufig eine erhebliche Verbesserung der färberischen Eigenschaften eines Farbstoffes herbeigeführt werden. Im Allgemeinen aber gilt die Regel, dass die gehäuften chromophoren und auxochromen Gruppen gleicher Art sein müssen; das gleichzeitige Auftreten verschiedener derartiger Gruppen führt mitunter zu einer Herabsetzung der Farbstoffnatur. Es sind sehr wenige Farbstoffe bekannt, in denen verschiedene chromophore Gruppen gleichzeitig vorhanden sind, dagegen bildet die gleichzeitige Einführung verschiedener auxochromer Gruppen eines der wichtigsten Hilfsmittel der Farbensynthese zur Herbeiführung feinerer Modifikationen in den Eigenschaften der dargestellten Farbstoffe.

Die im Vorstehenden skizzirte Theorie der Farbstoffe ist während der 25 Jahre ihres Bestehens in allen wesentlichen Gesichtspunkten unverändert geblieben, sie hat aber eine wichtige Erweiterung in den in neuerer Zeit von verschiedener Seite gemachten Beobachtungen über den sogenannten chinoiden Charakter sehr vieler Farbstoffe erhalten. Es ist nothwendig, auch diese Seite unserer theoretischen Kenntnisse über die Natur der Farbstoffe hervorzuheben.

Das seit den ältesten Zeiten ausgeübte Verfahren der Küpenfärberei (siehe unter »Färben«), welches namentlich für den Indigo sehr wichtig, aber auch auf andere Farbstoffe anwendbar ist, fand frühzeitig seine Erklärung in dem Umstande, dass die in diesem Verfahren benutzten Farbstoffe befähigt sind, durch Anlagerung von zwei Atomen Wasserstoff an ihre Moleküle in nahe verwandte häufig farblose Verbindungen überzugehen, welchen man den gemeinsamen Namen der Leukoverbindungen zuertheilte. Das aus der Indigoküpe abscheidbare Indigweiss ist die Leukoverbindung des Indigos und ähnliche Verbindungen sind für eine sehr grosse Zahl von anderen Farbstoffen bekannt geworden. Graebe und Liebermann wollten schon im Jahre 1868 in dieser Thatsache eine allgemeine Gesetzmässigkeit aller Farbstoffe erkennen, doch hat sich dieselbe in dieser weiten Form nicht halten lassen. Der Grund dafür zeigte sich später in der ausserordentlich grossen Verschiedenartigkeit in der Konstitution der sehr zahlreichen Substanzen, welche einen Farbstoffcharakter besitzen. Später wurde man darauf aufmerksam, dass die grosse Körperklasse der Chinone, welche sich von fast allen aromatischen Kohlenwasserstoffen ableiten lassen, eine eigenthümliche Analogie mit der Fähigkeit vieler Farbstoffe zur Bildung von Leukoverbindungen aufweist. Denn auch die gewöhnlich intensiv gefärbten Chinone sind imstande, zwei Wasserstoffatome aufzunehmen und dadurch in die zugehörigen meist farblosen Hydrochinone überzugehen. Der Zusammenhang dieser Erscheinung

mit derjenigen der Bildung von Leukoverbindungen bei den Farbstoffen ergiebt sich ohne weiteres daraus, dass alle Chinone Chromogene sind. Mit anderen Worten, die Atomgruppen, durch deren Eintritt ein Kohlenwasserstoff zu einem Chinon wird, sind chromophore Gruppen. Sehr viele Farbstoffe lassen sich daher ohne weiteres als Chinone charakterisiren, welche auxochrome Gruppen enthalten.

Die Chinone sind ursprünglich für eine nur in der aromatischen Reihe auftretende Körperklasse gehalten worden, die weitere Entwicklung der theoretischen Chemie hat aber zu der Erkenntniss geführt, dass die Chinone nichts anderes sind als Diketone, deren Auftreten indessen bis jetzt nur in der α- oder Ortho- und γ- oder Paraform beobachtet wurde. Durch die Erkenntniss der Chinone als Diketone werden Beziehungen zu der Fettreihe erschlossen, in welcher bekanntlich Mono- und Diketone zu den alltäglichen Erscheinungen gehören. In der That hat sich später gezeigt, dass nicht nur aromatische Diketone chromogen sind, sondern dass auch schon das einmalige Auftreten der Ketogruppe genügt, um zur Farbstoffbildung Veranlassung zu geben. Die in den Ketonen vorkommende Carbonylgruppe, — CO —, ist nicht nur als solche eine Gruppe von ausgesprochen chromophorem Charakter, sondern mit ihr auch die von ihr abgeleiteten Gruppen, nämlich die zweiwerthigen Ketimido-, Ketoxim- und Hydrazongruppen, für welche es ebenfalls gilt, dass ihre Häufung den chromogenen Charakter des Complexes, in dem sie enthalten sind, wesentlich erhöht.

Im Hinblick auf die soeben geschilderten nahen Beziehungen vieler Farbstoffe zu der weitverzweigten Körperklasse der Ketone und speciell zu den als Chinone bezeichneten Angehörigen derselben, wird es begreiflich, dass man ohne besonderen Zwang vielen Farbstoffen direkt einen chinonartigen Charakter zuschreiben kann. Bei anderen Farbstoffen wird dies häufig ebenfalls möglich durch eine geeignete Umgestaltung der Konstitutionsformel, durch welche ein Chinoncharakter zum Ausdruck gebracht wird, ohne dass ein direkter Zwang dazu aus den bei dem Studium der Umsetzungen des Farbstoffes gemachten Beobachtungen vorhanden wäre. In solchen Fällen führt also nur das Bestreben, für möglichst viele Farbstoffe die Chinonnatur anzunehmen, zu der Wahl einer derartigen Konstitutionsformel, welche man als »chinoide« Formel bezeichnet, und neben der lediglich auf experimenteller Basis gefundenen mit in Betracht ziehen kann. So lassen sich beispielsweise sämmtliche Azofarbstoffe auch als Glieder der nahe verwandten Klasse der Hydrazone auffassen und viele Chemiker thun dies mit Vorliebe, nachdem es sich gezeigt hat, dass Substanzen, welche unzweifelhaft Hydrazone sind, in ihren Eigenschaften den Azofarbstoffen ausserordentlich nahe stehen. In vielen Fällen ferner führen zwei Reaktionen, von welchen die eine ein Hydrazon, die andere den mit ihm isomeren Azofarbstoff ergeben müsste, zu einem und demselben Produkt, so dass es zweifelhaft erscheinen kann, ob diesem letzteren die eine oder die andere Konstitution zukommt. In solchen Fällen wird unter Umständen die Hypothese der Tautomerie zur Erklärung herangezogen, d. h. es wird angenommen, dass der betreffende Farbstoff eine Konstitution von labilem Gleichgewicht besitze, welche ihm gestattet, je nach den obwaltenden Verhältnissen bald in der Form eines Hydrazons, bald in derjenigen eines normalen Azofarbstoffes aufzutreten. Aehnliche Verhältnisse walten in anderen Farbstofffamilien ob. In letzter Linie gehen alle Erwägungen derartiger Verhältnisse zurück auf die grundlegende Spekulation über die Lagerung der Kohlenstoffaffinitäten in dem Kern der aromatischen Kohlenwasserstoffe. Hält man, wie es früher geschah, streng daran fest, dass der Benzolkern die ihm von Kekulé zugeschriebene Konstitution besitzt, so ist die Durchführung chinoider Formeln für die meisten Farbstoffe ausgeschlossen. Nimmt man aber in

Uebereinstimmung mit den Ergebnissen der neueren Forschung an, dass die Absättigung der freien Kohlenstoffvalenzen im Benzolkern unter sich je nach den vorhandenen Seitenketten eine verschiedenartige sein kann, dann wird es leicht, durch Verschiebung der Doppelbindungen chinoide Strukturformeln für die allermeisten Farbstoffe aufzustellen.

Die Betrachtungen über den chinoiden Charakter vieler Farbstoffe besitzen einen Werth, der weit über den theoretischer Spitzfindigkeiten hinausgeht. Sie sind unter Umständen absolut nothwendig für die Erklärung gewisser Eigenthümlichkeiten in dem Verhalten von Farbstoffen und haben in einzelnen Fällen (z. B. in der Rhodamingruppe) nicht nur zu einer wesentlichen Erweiterung der Erkenntniss geführt, sondern auch die Veranlassung zu weiterem technischen Fortschritt gegeben.

Bei der Eintheilung der Farbstoffe in natürliche Familien werden im allgemeinen nur diejenigen chromophoren Gruppen berücksichtigt, deren Erforschung bereits abgeschlossen ist. Die noch ungenügend erforschten Farbstoffe, deren Zahl keine sehr grosse ist, werden dann gewöhnlich am Schlusse der Betrachtung zusammengestellt. Einige Farbstoffe, welche streng genommen verschiedenartige chromophore Gruppen enthalten, denen aber sehr ähnlich gebaute Kohlenstoffkerne gemeinsam sind, wie z. B. die Triphenylmethanfarbstoffe und die Chinolinfarbstoffe, werden gewöhnlich auf Grund dieses letzteren Gesichtspunktes in eine Familie vereinigt.

Die Anzahl der theoretisch möglichen Farbstoffe geht in die Millionen, diejenige der experimentell bereits hergestellten in die vielen Tausende, im Handel befinden sich als Erzeugnisse des fabrikatorischen Grossbetriebes erheblich mehr als 500 verschiedene Farbstoffe. Die Möglichkeit, dass diese vielen verschiedenen Produkte dauernd im Handel neben einander bestehen können, während doch nach physikalischen Principien sich jede nur mögliche Nuance durch Mischung von drei Farbstoffen sollte herstellen lassen, beruht auf dem Umstande, dass für die technische Verwendung eines Farbstoffes nicht nur seine Nuance, sondern auch noch alle seine anderen Eigenschaften massgebend sind. Für die Herstellung gemischter Färbungen muss ferner die Forderung gestellt werden, dass die zu mischenden Farbstoffe in ihren färberischen Eigenschaften sich nahe stehen. Der Färber bedarf daher unbedingt einer sehr grossen Palette, wenn er imstande sein soll, jeder Anforderung zu entsprechen. Man kann sagen, dass unserem Bedürfniss nach verschiedenartigen Farbstoffen selbst durch die gegenwärtige Mannigfaltigkeit der Fabrikation noch nicht vollständig entsprochen ist. Diese Thatsache, sowie das fortwährende Streben nach Verbilligung werden die Produktivität der Farbenindustrie noch sehr lange nicht zum Stillstand kommen lassen.

Ein Ueberblick über das weite Gebiet der künstlichen Farbstoffe wird durch das allgemein zu diesem Zweck benutzte und in regelmässig erscheinenden neuen Auflagen fortwährend vervollständigte Tabellenwerk von Gustav Schultz, »Tabellarische Uebersicht der künstlichen organischen Farbstoffe« ermöglicht, welches für alle im Handel befindlichen Farbstoffe, so weit die erforderlichen Daten vorliegen, neben dem Handelsnamen die wissenschaftliche Bezeichnung, Konstitution, Darstellungsweise, das Jahr der Einführung und den Namen des Erfinders, die einschlägigen Patente und Litteraturangaben, sowie die charakteristischen Reaktionen angiebt. An der Hand dieses Schlüssels gelingt es dann leicht, weitere Aufklärungen in der zugehörigen, ausserordentlich umfangreichen Quellenlitteratur aufzufinden. *Otto N. Witt*, Berlin.

Anilingelb, syn. Spritgelb, salzsaures Amidoazobenzol $C_6H_5.N:N.C_6H_4.NH_2.HCl$. Einer der ältesten Azofarbstoffe, der als Ausgangspunkt für die Darstellung anderer hierhergehöriger Körper dient. Blaue, in Wasser schwer, in Alkohol leicht lösliche Nadeln.

Anilingrün, syn. Aldehydgrün, Vert d'Usèbe, $C_{22}H_{27}N_3S_2O$, entsteht durch Einwirkung von Acetaldehyd auf Fuchsin in Schwefelsäure gelöst. Der Farbstoff wird jetzt nicht mehr dargestellt.

Anilinroth, syn. für Fuchsin.

Anilinschwarz, syn. Nigranilin, entsteht durch Oxydation von Anilinsalzen durch Mangansuperoxyd, Chromsäure, Chromaten, Kupfersalzen, Eisenoxydsalzen etc. Es ist ein schwarzer, amorpher Körper, der in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform unlöslich, in Phenol, Kresol oder Anilin mit blauer Farbe löslich ist. Nach NIETZKI kommt ihm die Formel $C_{30}H_{25}N_5$ zu. Es ist eine Base und liefert mehrere Reihen von Salzen. Es ist ausserordentlich lichtecht und findet in der Färberei ausgedehnte Verwendung, indem es auf der Faser selbst durch Anilin und Oxydationsmittel erzeugt wird. So bringt man z. B. Wolle in ein Bad von stark schwefelsaurer Anilinlösung und Kaliumbichromat, beim Erhitzen schlägt sich dann das entstehende Anilinschwarz auf der Faser nieder.

In derselben Weise geht BETHE vor, um das Chitin bei Mysis zu färben. Die Schnitte kommen zunächst für 3—4 Minuten in eine schwach angesäuerte, frisch bereitete Lösung von salzsaurem Anilin (auf 10 Ccm. einer 10%igen Lösung 1 Tropfen Salzsäure), kurzes Abspülen in Wasser, Uebertragen in 10%ige Lösung von Kaliumbichromat. Die Operation wird mehrmals wiederholt, bis die Färbuug intensiv genug ist. Durch Abspülen in Brunnenwasser werden die anfangs grünen Präparate blau. Es färben sich Kern und Protoplasma tiefblau, ebenso das Chitin. (BETHE, Zool. Anz., Bd. 8, 1895.)

Anilinviolett, syn. Mauveïn, $C_{27}H_{24}N_4$, der erste, von W. H. PERKIN 1856 technisch dargestellte Anilinfarbstoff, entsteht durch Oxydation von Anilin und Toluidin mittels Kaliumbichromat. Es ist ein krystallinisches, schwarzes Pulver, das in Wasser, Aether und Benzol unlöslich, in Alkohol löslich ist. Es ist eine starke Base, von deren Salzen das Sulfat und Chlorhydrat in Wasser etwas löslich sind.

Von BAUMGARTEN zur Knorpelfärbung benutzt, Färbung 2—3 Minuten, Differenzirung in dünner Salzsäure (2—3 Tropfen auf ein Uhrschälchen Wasser), Auswaschen in Wasser, Einschluss in Glycerin. Knorpel bläulich, verkalkte Grundsubstanz violett, Knochen röthlich, Markgewebe hellblau.

Anilinwasser siehe Anilin.

Anilinxylol siehe Anilin.

Anisöl, Oleum Anisi viridis, wird aus den Samen der vor allem in Südrussland kultivirten Pimpinella Anisi durch Destillation gewonnen. Es ist ein farbloses, dickflüssiges Oel, spec. Gew. 0,985 bei 15°. Brechungsexponent 1,557. Seine wichtigste Eigenschaft ist, bei circa 10° zu einer krystallinischen Masse zu erstarren. Mit 90%igem Alkohol ist es in jedem Verhältniss mischbar. Es besteht zu 90% aus festem und zu 10% aus flüssigem Anethol und einem Terpen. Durch langes Aufbewahren kann sich sein Schmelzpunkt unter 0° erniedrigen.

Das Anisöl ist von KÜHNE zuerst wegen seines hohen Gefrierpunktes zur Einbettung empfohlen worden. Die Präparate werden in abs. Alkohol entwässert und dann 12—24 Stunden mit dem Oel durchtränkt. Auf dem Gefriermikrotom erhalten sie dann mittels des Aethersprays eine sehr gute Schnittkonsistenz und thauen nur sehr langsam auf. Die Schnitte werden sehr gleichmässig und brechen nicht. Entfernung des Oels, das die Färbung durchaus nicht beeinträchtigt in abs. Alkohol.

Später ist es dann besonders von HEIM und STEPANOW für den gleichen Zweck empfohlen worden. Der letztere bringt die Objekte aus 85%igem oder

gar 70%igem Alkohol für 1—2 Stunden in Anilin, bis sie durchsichtig werden, dann für 1—2 Stunden in einmal zu wechselndes Benzol, dann für mehrere Stunden in Anisöl oder Anethol.

Litteratur: Kühne (Centr. Bakt., Bd. 12, 1892), Heim (Lehrbuch der Bakteriologie, II. Aufl., 1900), Stepanow (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900).

Anneliden siehe Würmer.

Anstichversuche nach Roux siehe experimentell-embryologische Methoden.

Anthozoen siehe Coelenteraten.

Anthocyan. Der in der Pflanze weit verbreitete, meist in den rothvioletten und blauen Blumenblättern oder in den rothblättrigen Varietäten auftretende Farbstoff, der auch die herbstliche Rothfärbung der Blätter bedingt, ist löslich in Wasser, Alkohol und Aether. Charakteristisch ist seine Rothfärbung in saurem und seine Blaufärbung in schwach alkalischem, seine grünblaue, grüne Färbung (bis Entfärbung) in stark alkalischem Medium.

Magnus, Berlin.

Anthrapurpurin, syn. Isopurpurin, ein Oxyketonfarbstoff. Oxyisoanthraflavinsäure, braungelb, in kaltem Wasser gar nicht, in heissem Wasser etwas und in heissem Alkohol leicht löslich ist. Mit Alkalien bildet er eine violette, mit Schwefelsäure eine kirschrothe Lösung. Färbt mit Thonerde gebeizte Baumwolle scharlachroth.

Antimonsalze siehe Brechweinstein.

Antipyrin, Analgesin, Dimethyl-Phenylisopyrazolon, $C_{11}H_{12}N_2O$. farblose, monokline Krystalle von etwas bitterem Geschmack. Es löst sich etwa in 1 Theil Wasser oder 1 Theil 90%igen Alkohols, weniger in Chloroform oder Aether. Eisenchlorid ruft in Antipyrinlösung, selbst noch bei sehr starker Verdünnung, Rothfärbung hervor.

Das in der praktischen Medicin bekanntlich in ausgedehnter Weise als Antipyretikum verwendete Antipyrin kann auch zur Lähmung mancher kleinen Wasserthiere (Rotatorien, Protozoen) benutzt werden in dünnen Lösungen (1%—1‰).

Apochromate siehe Mikroskop.

Arachniden siehe Arthropoden.

Argentamin, farblose, alkalisch reagirende Flüssigkeit, die durch Auflösen von 10 Theilen Silberphosphat und 10 Theilen Aethylendiamin in 100 Theilen destillirten Wassers gewonnen wird. Das in den Handel kommende Präparat ist demnach bereits 10%. Um keine Missverständnisse hervorzurufen, thut man gut, statt einfach von einer »1%igen Argentaminlösung« von einer »1%igen Lösung der in den Handel als Argentamin kommenden Flüssigkeit« zu reden.

Argentamin ist zur Darstellung des feineren Baues der Nervenzellen und zur Darstellung der Markscheiden verwandt worden (Mosse). (Näheres siehe Silber.)

Mosse, Berlin.

Arsenige Säure. Diese Säure ist in freiem Zustande nicht bekannt, dagegen giebt es ein Arsenigsäureanhydrid, As_2O_3 ($A_2O_3 + 3H_2O = 2H_3AsO_3$), das in amorpher und in krystallinischer Form vorkommt. Das amorphe, durchsichtige Trioxyd ist in 25 Theilen kalten Wassers und in 94 Theilen absoluten Alkohols löslich; das krystallinische, undurchsichtige in 80 Theilen kalten Wassers und in 400 Theilen absoluten Alkohols. Beide Modifikationen gehen leicht in einander über. Die wässerige Lösung des Trioxyds reagirt sauer.

Bekannt sind ferner Salze der arsenigen Säure, die Arsenite, die sehr beständige Verbindungen darstellen.

Arsentrioxyd und die Arsenite sind stark giftig.

Arsenigsäureanhydrid findet Verwendung:

1. als Antiseptikum *a)* als Zusatz zur Gelatine nach Gerlach (für Embryonen). Die Gelatine besteht aus 40 Grm. Gelatine, 200 Ccm. koncentrirter Lösung des Anhydrids, 120 Ccm. Glycerin; *b)* als Zusatz zur Glyceringelatine zur Injektion nach Robin;

2. als Macerationsmittel vom Thiem in gesättigter Lösung für quergestreifte Muskelfibrillen;

3. in dem von Thompson zur Untersuchung angegebenen Medium, das ausserdem aus Brom und Schwefel besteht.

Litteratur: Thiem (Inaug.-Diss. Greifswald 1876), Thompson (Journ. Roy. Micr. Soc., 1882), Gerlach (Beiträge zur Morphologie, 1884). *Mosse*, Berlin.

Arsensäure, $H_3 AsO_4$, kommt im Handel als dicke, sauer reagirende Flüssigkeit vom specifischen Gewicht 2.0 vor. Beim Abdampfen der Flüssigkeit bilden sich weisse, aus kleinen Nadeln bestehende Massen. Die Salze der Säure, die Arseniate, rufen in neutraler Lösung mit Silbernitrat einen rothbraunen Niederschlag hervor. Auch diese Verbindungen sind stark giftig.

Von Unna ist eine 1%ige Lösung empfohlen worden zur Entfärbung von Bakterienpräparaten, um gleichzeitig Bakterien in der Hornschicht der Haut in unverhornten Zellen im Eiter darzustellen. Die Schnitte werden zuerst mit Karmin, am besten mit Pikrocochenille vor und dann mit Boraxmethylenblau nachgefärbt. Sie werden bis zur genügenden Differenzirung abwechselnd in 1%ige Arsensäure und Alkohol getaucht, dann durch Bergamottöl in Balsam montirt. Hornschicht entfärbt, Kokken blau, Kerne roth, Mastzellen und viele Leukocytenkerne ebenfalls blau.

Golgi reducirt Goldpräparate in 1%iger Arsensäure, Squire entkalkt in 4%iger Arsensäure (Näheres siehe Goldmethoden und Entkalkung).

Litteratur: Unna (Berl. klin. Woch., 1891). *Mosse*, Berlin.

Arterien siehe Gefässe.

Arthropoden. Kaum eine andere Thierklasse bietet der exakten Konservirung solche Schwierigkeiten wie die Arthropoden. Es hängt das wesentlich damit zusammen, dass ihr Körper von einem chitinigen Hautskelet umgeben ist, das den meisten Fixationsmitteln, unter gewöhnlichen Bedingungen angewandt, den Eintritt in das Innere des Körpers verwehrt. Dazu kommt noch, dass, natürlich gilt das nur von den Tracheaten und nicht von den Branchiaten, sich die Luft beim Einlegen der Thiere in den Tracheen fängt und so auch ein Eindringen der fixirenden Flüssigkeit verhindert. Es muss deshalb als erster Grundsatz für die gute Konservirung von Arthropoden die Bedingung gestellt werden, dass die Thiere vor dem Fixiren geöffnet oder zerschnitten werden, um der Fixirflüssigkeit den Weg in das Innere zu öffnen. Ist das aus irgend welchen Gründen nicht angängig, so muss man Fixirmittel anwenden, welche möglichst leicht eindringen. Die feuchte Hitze ist bekanntermassen ein Fixationsmittel von nicht zu unterschätzendem Werth und in allen den Fällen, in denen man heisse Fixationslösungen anwendet, wird die Hitze jedenfalls das primäre Fixativ sein, ob man nun heisse Sublimatlösung oder heisses Wasser wähle. Erst nach und nach wird dann auch das betreffende chemische Agens (Sublimat, Alkohol, Pikrinsäure) in die Tiefe dringen und seine Wirkung ausüben. Man kann deshalb sehr wohl auch die Thiere zunächst durch kurzes, wenige Minuten dauerndes Eintauchen in heisses Wasser tödten und dann in die kalte Fixationslösung einlegen.

Was die Wahl der Fixationslösung anlangt, so hängt das natürlich ab von dem speciellen Zweck, den man verfolgt (siehe unten). Es sind für die Totalfixation von Arthropoden eigentlich alle die bekannten Mittel angewandt worden, man wird aber wohl am besten immer möglichst leicht eindringende wählen, wie Alkohol und alkoholhaltige Mischungen (Sublimatalkohol, Perénji, Carnoy etc.) und dann Pikrinsäuregemische (Pikrinschwefelsäure, Pikrinsalpetersäure etc.). Einer besonderen Beliebtheit erfreut sich in dieser Beziehung die Perénji'sche Flüssigkeit, die auch für andere Objekte bisweilen Vorzügliches leistet, und wir können in dieser Beziehung dem absprechenden Urtheil, welches Lee und Mayer über diese Flüssigkeit fällen, in keiner Weise beistimmen.

Die Angaben über das, was man unter einer heissen Fixationslösung zu verstehen hat für Arthropoden, schwanken sehr, zwischen 50 und 90°, doch scheinen im allgemeinen Temperaturen von 70 bis höchstens 80° zu genügen.

Ein anderer Weg, um das Eindringen der Fixationslösung zu erleichtern, ist der, dass man die Lösung mittels einer vorsichtig in das Abdomen eingeführten Pravazspritze injicirt. Schliesslich kann man auch durch vorsichtiges Evakuiren, indem man das in der Fixationslösung befindliche Objekt unter die Luftpumpe bringt, die Luft aus den Tracheen entfernen und der Lösung Eingang verschaffen. Allerdings muss man dabei sehr vorsichtig vorgehen, wenn man grobe Zerreissungen vermeiden will.

Nur sehr kleine Arthropoden, wie kleine Crustaceen, kann man ohne weitere Vorsichtsmassregeln in toto fixiren.

Das Chitinskelet bringt aber auch noch andere Unannehmlichkeiten für die technische Bearbeitung der Arthropoden mit sich dadurch, dass es sich, in Paraffin eingebettet, sehr schwer schneidet. Um diesem Uebelstand möglichst abzuhelfen, kann man das Chitin, nachdem die Objekte fixirt sind, erweichen und benutzt zu diesem Zwecke Eau de Labarraque 5—6fach verdünnt, Eau de Javelle, 40%igen Alkohol mit Salpetersäurezusatz, allmählich bis zu 20% steigend, Holzessig, 1%iges Kupfersulfat, Fixation in 10%igem Formol. Da die erstgenannten Flüssigkeiten, Eau de Javelle und Eau de Labarraque, die weichen Gewebe des Thieres nicht unerheblich alteriren, so kann man ihnen den Zutritt ins Innere des Objekts durch Verschliessen mit etwas leicht schmelzbarem Paraffin verwehren (vergl. auch den Artikel Chitin).

Aber auch trotz dieser Vorsichtsmassregeln werden oft die Objekte im Paraffin noch sehr brüchig, und es ist nöthig, den Block vor jedem Schnitt mit einer Masse zu bestreichen, welche das Bröckeln verhindert. Als solche empfiehlt sich am meisten das von Heider empfohlene Mastix-Kollodium (Näheres siehe Mastix).

Für specielle Zwecke sind die folgenden Methoden beschrieben worden.

Muskeln: Mazzoni vergoldet Heuschreckenmuskeln aus der Coxa, indem er sie für ½ Stunde in dreifach mit Wasser verdünnte Ameisensäure einlegt, dann 7—8 Minuten 1%iges Goldchlorid, dann wieder 12 Stunden lang Behandlung mit verdünnter Ameisensäure im Dunkeln. Enderlein benutzt zur Fixation von Hexapodenmuskeln eine Mischung von 1 Theil konc. Sublimats und 2 Theilen 96%igen Alkohols, heiss zu fixiren. Biedermann empfiehlt zur Darstellung der Muskelnerven vor allem den Oeffnungsmuskel der Scheere von Astacus, den man freilegen kann, wenn man den ganzen Schliessmuskel entfernt. Man kann ihn leicht herausheben und vergolden, 15 Minuten 1%iges Goldchlorid, dann Reduktion im Dunkeln in zweifach verdünnter Ameisensäure.

Bindegewebe: Zur Darstellung des Bindegewebes der Chilopoden fixirt Duboscq Stücke des Thieres in Flemming oder gleichen Theilen von

$1^0/_0$iger Chromsäure, $1^0/_0$iger Salpetersäure und $95^0/_0$igem Alkohol. Man kann auch das frische Gewebe in der RIPART-PETIT'schen Lösung untersuchen, die man mit Thionin versetzt.

Blut: Um Blut zu gewinnen, kann man dasselbe bei vielen Arthropoden direkt aus dem Herzen entnehmen (Dekapoden), oder man reisst dem Thier (Hexapoden) einen Flügel oder Flügeldecke aus und fängt den hervorquellenden Tropfen mit dem Objektträger auf (CATTANEO). DUBOSCQ mischt zur Konservirung und Färbung des Chilopodenblutes einen Tropfen Blut mit einem Tropfen der folgenden Flüssigkeit: $1^0/_0$ige Lösung von Kupferacetat in $1^0/_0$iger Essigsäure, $1^0/_0$iges Kupferchlorid, $1^0/_0$ige Osmiumsäure und $1^0/_0$iges Thionin zu gleichen Theilen.

Darmkanal: Zur Untersuchung des Darmkanals von Coleopteren fixirt RENGEL 1—2 Stunden (Tenebrio) in Flemming oder Hermann, SCHOENICHEN für Isopoden in Pikrinessigsäure, MC. MURRICH für den gleichen Zweck in Sublimat oder Hermann. DIERCKS schneidet bei Coleopteren das Abdomen des lebenden Thieres auf, hebt die Seitenränder empor, zieht die Rückenhaut ab und schüttelt etwas in der Fixationslösung. Dadurch lösen sich die Organe voneinander und das Fixativ dringt leichter ein.

Drüsen: Für die Mitteldarmdrüse von Crustaceen sind empfohlen worden alkoholisches Sublimat mit Salpetersäurezusatz, Platinchlorid-Chromsäure nach MERKEL (FRENZEL), koncentrirtes Sublimat allein oder mit gleichen Theilen $10^0/_0$iger Salpetersäure (FRENZEL), Osmiumgemische leisten nichts für diesen Zweck (FRENZEL), das Beste ist in dieser Hinsicht die BRANCA'sche Sublimat-Pikrin-Formol-Essigsäure. Fixation 1—2 Stunden, ebensolange fliessendes Wasser, dann steigender Alkohol (VIGIER). Für Speicheldrüsen kleiner mariner Crustaceen empfiehlt IDE, den abgeschnittenen Kopf in gewöhnlichem oder GILSON'schem Sublimat zu fixiren. GILSON fixirt die Stinkdrüse von Coleopteren 10 Minuten lang in $5^0/_0$igem wässerigen Sublimat, KORSCHELT die Spinndrüsen von Lepidopteren in Flemming, Hermann oder Sublimat.

Tracheen: Um die Endverzweigungen der Tracheen in den Spinndrüsen studiren zu können, benutzt HOLMGREN bei Lepidopterenlarven die vitale Methylenblaufärbung oder die Golgimethode, es färbt sich besonders das Protoplasma der Matrixzellen. PRENANT fixirt zur Untersuchung der Trachealzellen parasitäre Dipterenlarven in Formol-Pikrinsäure nach BOUIN, in Flemming oder WEIGERT's Neurogliafixativ Färbung in Eisenhämatoxylin.

Kiemen: KIMUS fixirt die Kiemen von Crustaceen in Flemming 12—14 Stunden oder GILSON'schem Sublimat 30—40 Minuten. Um die Präparate besser schneidbar zu machen, legt er sie vor der Einbettung 24 Stunden in Holzessig oder 5—6 Stunden in $1^0/_0$iges Kupfersulfat.

Nervensystem: Das Nervensystem der Arthropoden und vor allem der Crustaceen hat durch die Untersuchungen von BIEDERMANN, RETZIUS, BETHE und anderer eine sehr eingehende Bearbeitung gefunden, vor allem mittels der vitalen Methylenblaumethode. Man injicirt den Thieren mit einer kleinen Spritze 1—2 Ccm. einer $0{,}2^0/_0$igen Methylenblaulösung in das Abdomen oder den Thorax, ohne das Herz zu verletzen. Ist die Injektion gelungen, so müssen die Gefässe der Scheerenarme sofort blau durchscheinen. Entweder öffnet man direkt, indem man die ventrale Decke des Abdomens entfernt (RETZIUS), oder lässt zunächst 2—4 Stunden in der feuchten Kammer liegen und setzt dann erst die zu untersuchenden Theile der Luft aus (BIEDERMANN). In beiden Fällen dauert es (feuchte Kammer) mehrere Stunden, bis eine gehörige Bläuung eingetreten ist (manchmal bis zu 20 Stunden). BETHE (97) legt das Herz frei und tropft 5—6 Tropfen einer $1^0/_0$igen Lösung von EHRLICH'schem Methylenblau auf die venösen Ostien auf, alle 2—3 Minuten. Sobald das Thier todt ist, werden die Eingeweide herausgenommen, Gehirn und Bauchmark vom Bindegewebe befreit und 2 Stunden der Luft ausgesetzt.

Auch bei Coleopteren (Hydrophilus) gelingt die Methylenblaufärbung, wenn man dem Thier zwischen dem letzten und vorletzten Hinterleibsring $^1/_2$ Ccm. einer koncentrirten Methylenblaulösung in physiologischer Kochsalzlösung injicirt und 3—4 Stunden leben lässt (BIEDERMANN). Dann tödtet man das Thier durch Kopfabschneiden, legt die zu untersuchenden Theile frei, reinigt sie von Tracheen und setzt sie der Luft in der feuchten Kammer aus, in die man am besten noch eine Schale mit Terpentinöl stellt.

Die rasche Golgimethode ist von SCHREIBER zur Darstellung der peripheren Nervenendigungen von Astacus (Skaphopodid, Abdominalfüsschen) benutzt worden (1 Tag in 2,5%iges Bichromat 25 Theile und 4%iges Formaldehyd 5 Theile oder 2 Tage in 2.5 %iges Bichromat 6 Theile und 5%iges Formaldehyd 12 Theile), ähnlich verfährt KENNYON für das Gehirn der Honigbiene. Auch fixirt er in 10—20%igem Formol oder in einer Mischung von 40 Theilen 5%igen Kupfersulfats und 20 Theilen Formol, Auswaschen. Entwässern. Paraffin. Färbung der Schnitte in MALLORY'schem Hämatoxylin.

Auch die LÖWIT'sche Goldmethode ist von DOGIEL mit Vortheil für das Studium der Herznerven von Astacus angewandt worden.

Für die Untersuchung des feineren Baues des Bauchstrangs von Astacus empfiehlt BINET Fixation in Flemming, Hermann oder 5%igem Sublimat mit 15% Essigsäure. In letzterem Falle wäscht er zunächst aus. bringt dann 24 Stunden in 1%iges Kupfersulfat, 6 Stunden auswaschen, dann 12 Stunden in 0,1%iges Hämatoxylin, in 30—40%igen Alkohol, dann wieder 1%iges Kupfersulfat. Entwässern und Einbetten. Die Schnitte können in Safranin nachgefärbt werden. BETHE (1900) fixirt die Ganglien von Dekapoden zur Darstellung der Neurofibrillen in einer Mischung von 3 Theilen koncentrirter Pikrinsäure und 1 Theil koncentrirten pikrinsauren Ammoniaks mit darauf folgender Molybdänirung (Näheres siehe Neurofibrillen).

Auge: Für das so vielfach untersuchte Auge der Arthropoden sind die verschiedensten Fixationsmethoden angegeben worden. PURCELL fixirt für Opilioneen den abgeschnittenen Cephalothorax 3 Stunden oder länger, eventuell bei 45° in einer Mischung von gleichen Theilen koncentrirter Pikrinsäure und absolutem Alkohol, dann 60%igen Alkohol. PARKER fixirt die Augen von Dekapoden in VOM RATH's Platinchlorid-Osmium-Essig-Pikrinsäure mit nachfolgender Holzessigbehandlung. Entpigmentiren in 0,1%igem Aetzkali. Zum Studium der Augenganglien diente die vitale Methylenblauinjektion nach RETZIUS. CREVATIN fixirt die Augen von Lepidopteren in Flemming oder Sublimatalkohol, Entpigmentiren mittels nascirenden Chlors nach MAYER. ROSENSTADT fixirt die Augen von Dekapoden in einem erwärmten Gemisch von 3 Theilen koncentrirten Sublimats und 1 Theil Perénji. Die Entfernung des Pigments geschieht in einer Lösung von je 3 Theilen Salzsäure und Salpetersäure in 150 Theilen Wasser bei 58°. REDIKORZEW fixirt die abgeschnittenen Köpfe der Hexapoden in Pikrinschwefelsäure, Pikrinessigsäure oder koncentrirtem Sublimat, eventuell mit 2%iger Essigsäure. Durchfärben mit Boraxkarmin und Nachfärben mit Bleu de Lyon. Isoliren der Ocellen in 2%iger Essigsäure bei 45°, geringen Mengen von 0,005%iger Chromsäure, 10%igem Alkohol oder stark verdünntem Eau de Javelle. Entpigmentiren in 25%iger Salpetersäure oder Chromsalpetersäure.

Gehörorgan und Otocyste: VON ADELUNG fixirt das Gehörorgan der Locustiden in kochendem Alkohol, entfernt das Pigment durch mehrtägige Behandlung in Chloroform mit 1%iger Salpetersäure und erweicht das Chitin mit Eau de Javelle. Will man Totalpräparate anfertigen, so ist das letztere unnöthig. dagegen muss man das Fett durch eine Mischung von 1 Theil Alkohol und 2 Theilen Aether bei 50—60° einen Tag lang extrahiren. Durchfärben in Boraxkarmin, Alkohol, Nelkenöl. Balsam. BETHE (95) fixirt die Otocyste von Mysis mit Sublimat. Pikrinschwefelsäure oder VOM

Rath's Pikrin-Platinchlorid-Osmium-Essigsäure. Erweichung des Chitins durch 8—14tägiges Einlegen in 40%igen Alkohol, dem allmählich bis zu 20% Salpetersäure zugesetzt wird. Färbung mit Anilinschwarz.

Für die antennalen Sinnesorgane empfiehlt vom Rath (88) bei Hexapoden Fixation in Osmiumdämpfen (wenige Minuten). Child bei Dipteren Sublimatalkohol (50%), Maceriren durch mehrtägige Einwirkung von 0,02%iger Chromsäure, Preusse bei Hemipteren konc. Sublimat 5 bis 10 Minuten, Flemming oder Platinchlorid mit Nachbehandlung in Holzessig.

Geschlechtsorgane. Zum Studium der Ei- oder Samenbildung bei den Arthropoden sind von vielen Untersuchern vor allem die verschiedenen vom Rath'schen Gemische empfohlen worden, so für Hoden von Dekapoden (vom Rath 91), von Orthopteren (vom Rath 92). Ovarien von Hymenopteren (Bickford), Ovarien von Hemipteren (Gross), Copepoden (Häcker 1901). Dagegen fixirt Hermann die Hoden von Dekapoden 5 Stunden in Flemming, Bouin und Collin die Hoden von Myriapoden in Pikrin-Essig-Formalin (konc. wäss. Pikrinsäure 75, Formol 20, Eisessig 5), 24 bis 48 Stunden, 4—5 Stunden auswässern und sehr vorsichtig entwässern. Im Laufe des Monats Mai ist bei Geophilus die Spermatogenese am lebhaftesten. Verson fixirt die Hoden von Lepidopteren in Pikrinschwefelsäure. Wilcox die Hoden von Rhynchoten in Flemming, Sublimat, Müller oder heissem Wasser, Schmidt die Hoden von Myriapoden in Sublimat, Kluge tödtet Vespa durch Einlegen in 60%igen Alkohol, der auf 40° erwärmt ist. Nur die Thiere, die nach 10 Sekunden untergesunken sind, werden benutzt und in 80%igen Alkohol übergeführt. Silvestri fixirt Hoden und Ovarien von Chilognathen in Gilson'schem Sublimat, abgelegte Eier in Pikrinschwefelsäure. Montgomery Hoden von Rhynchoten in Hermann, Obst die Ovarien von Arachnoideen in Sublimat, Munson die Ovarien von Xiphosuren in einem Gemisch von gleichen Theilen 10%iger Salpetersäure und Pikrinschwefelsäure. Zur Fixation der Ovarien der Bienenkönigin benutzt Paulcke heissen Sublimatalkohol, eventuell mit Eisessigzusatz. Um das Eindringen zu erleichtern, wird der Thorax abgetrennt und vorsichtig der erste Unterleibsring entfernt. Im starken Alkohol kann man dann später die sämmtlichen Chitinringe exklusive Legeapparat wegschneiden.

Embryologisches. In Bezug auf die allgemeinen Verhältnisse gilt auch hier das oben Gesagte. Crustaceen: Kingsley fixirt die Eier von Dekapoden in Perénji. Weldon durch Einlegen in warmes (50°) koncentrirtes Sublimat, die Eier lassen sich dann durch Nadeln leicht von den Schalen befreien, Kishinouye fixirt die Eier von Xiphosuren durch Eintauchen in Wasser von 70—80° und lässt sie darin erkalten, dann 70%iger Alkohol. Vorher kann man bei jungen Stadien den Dotter an mehreren Stellen mit einer Nadel durchbohren, Roule lässt Crustaceenembryonen nur solange in koncentrirtem Sublimat mit 25% Eisessig, bie sie weiss werden, dann 40%iger Alkohol, Brauer fixirt Eier von Phyllopoden ausschliesslich in heissem Sublimat, Häcker (98) in heissem Sublimatalkohol (100 absol. Alkohol, 1—2 Ccm. koncentrirtes Sublimat). Butschinsky fixirt Eier von Dekapoden in heissem Perénji, Kleinenberg oder Sublimatalkohol, Einbettung zuerst in Photoxylin, dann Paraffin, Waite fixirt Hummereier in Flemming oder Pikrinschwefelsäure. Will man den Dotter mitschneiden, so muss man die Lösung lange einwirken lassen. Will man ihn entfernen, so lässt man sie höchstens 30 Minuten einwirken. Bringt man die Eier aus starkem Alkohol in schwächeren zurück, so quillt die Eischale und man kann sie leicht entfernen. Für Copepoden benutzt Häcker (95 u. 97) ausschliesslich die vom Rath'sche Platinchlorid-Osmium-Essig-Pikrinsäure, man lässt sie zunächst einige Minuten in der koncentrirten, dann bis zu 24 Stunden in der verdünnten Lösung. Um beliebige Theilungsstadien von

Cyclopseiern zu erhalten, empfiehlt derselbe Verfasser (99) folgendes Verfahren. Man sucht grosse eiersacklose Weibchen von Cyclops viridis aus und isolirt dieselben mit einigen Männchen in einer Porcellenschale, in welcher man einige Spirogyrafäden und etwas Pflanzendetritus gebracht hat. Man bringt dann die Weibchen mit jungen Eisäckchen in Uhrschälchen und untersucht nach Absaugung des Wassers bei schwacher Vergrösserung. Zwischen einzelnen Theilungen verstreicht ungefähr immer eine Stunde. Für Isopoden empfiehlt Mc. Murrich Fixation in alkoholischer Pikrinschwefelsäure (100 koncentrirte Pikrinsäure in 70%igem Alkohol, 2 Schwefelsäure). Patten fixirt die Eier der Embryonen von Xiphosuren in Perénji 24 Stunden, die gequollenen Hülsen lassen sich dann leicht entfernen. Wichtig ist, dass man zur Nachbehandlung gleich starken Alkohol nimmt.

Arachnoidea: Kishinouye fixirt Embryonen von Araneïnen durch Erwärmen in Wasser auf 70—80°, Furchungsstadien werden direkt in heisses Wasser getaucht, bis sie opak werden, dann 70%iger Alkohol. Ist die Eihaut noch nicht geplatzt, so muss sie angestochen werden. Brauer (94) fixirt die Eiröhre von Skorpioniden in früheren Stadien direkt ½—1 Stunde in Flemming, in späteren Stadien bringt man sie zuerst für 1—2 Minuten in nahezu kochendes Wasser, dann für 10—20 Minuten in Flemming. In der letzteren werden die Embryonen herausgenommen, aber in der Embryonalhülle gelassen.

Hexapoda. Wheeler präparirt die Eier von Orthopteren in physiologischer Kochsalzlösung aus und fixirt dann in Perénji oder Sublimat. Abgelegte Eier tödtet man durch langsames Erwärmen in Wasser oder Pikrinschwefelsäure auf 80—90°, die chitinösen Eihüllen können dann leicht entfernt werden. Man kann die letzteren nach Morgan auch zuerst ½ bis 1 Stunde in 5—6fach verdünntem Eau de Labaraque erweichen und dann die Eier in Pikrinschwefelsäure fixiren. Cholodkowsky legt die aufgeschnittenen Kokons 12 Stunden in Perénji, im 90%igen Alkohol werden die Eier mit Nadeln isolirt und dann einige Minuten bis zum Sieden in Jodjodkalium (1 : 1 : 300) erhitzt, dann 70%iger Alkohol.

Heymons entnimmt dem Weibchen von Blatta den Kokon, schneidet ihn an einem Ende an, bringt ihn 2 Minuten in Wasser von 90°, dann in Flemming, wo man ihn vorsichtig öffnet und die Embryonen leicht herauspräparirt. Knower fixirt Eier von Termiten in heisser alkoholischer Pikrinschwefelsäure, dann 70%iger Alkohol. Die Keimscheiben werden vom Dotter abpräparirt.

van Rees fixirt Puppen von Dipteren in heissen Flüssigkeiten, Wasser, Alkohol, dünner Chromsäure, bis zur Gerinnungstemperatur des Eiweisses. Henking (88) übergiesst abgelegte Fliegeneier mit kochendem Wasser oder er legt sie in ein Reagensglas mit wenig Flemming und taucht dasselbe in kochendes Wasser.

Henking (90) fixirt Eier von Lepidopteren dadurch, dass er sie, in einem Uhrschälchen mit wenig kaltem Wasser liegend, mit fast kochendem Wasser übergiesst. Mayer fixirt Larven oder Puppen von Lepidopteren nach theilweiser Entfernung der Chitinhülle mit warmem (55°) Perénji oder koncentrirtem Sublimat in 35%igem Alkohol. Zur Erhaltung der Vorstufen des Pigments im Schmetterlingsflügel präparirt Friedmann denselben aus der Puppe heraus und fixirt 48 Stunden in Hermann. Schwartze fixirt Eier von Lepidopteren in heissem (70°) koncentrirtem Sublimat. Will man kalt fixiren, so muss man zuvor in heissem Wasser abtödten. Für ältere Embryonen eignet sich besser warmer Sublimatalkohol.

Petrunkewitsch fixirt die Eier von Coleopteren in Perénji 12 bis 24 Stunden. Nachdem sie dann eine Woche in 70%igem Alkohol gelegen haben, kann man die Hülle mit feinen Nadeln abpräpariren. Karawaiew

tödtet die Larve von Tenobium durch heisses (80°) Wasser, dann lässt er sie auf dem Gefriermikrotom mit dem Bauch nach oben frieren und schneidet von der Seite einen dünnen Streifen weg, dann Fixation in Pikrinschwefelsäure. Auf diese Art glaubt er sicher Dislokationen vermeiden zu können. DEEGENER fixirt die Eier von Hydrophilus und Dytiscus in heisser $^1/_2$%iger Chromsäure oder Pikrinschwefelsäure 2—3 Minuten, dann kalte Lösung. Für ältere Eier ist mehr zu empfehlen heisses koncentrirtes Sublimat oder kaltes koncentrirtes Sublimat in 60%igem Alkohol. Für Schnittpräparate brauchen die Eier nicht geschält zu werden, wohl aber für Totalpräparate.

KARAWAIEW (98) tödtet die Larven von Hymenopteren zuerst in 80° heissem Wasser und bringt sie sofort für 24 Stunden in Pikrinschwefelsäure. Aeltere Larven müssen vor dem Abtödten seitlich aufgeschnitten werden.

Onychophora. SHELDON fixirt die Eier von Peripatus in Sublimatessigsäure (2 : 1).

Litteratur: HEIDER (Die Embryonalentwicklung von Hydrophilus, Jena, 1889), MAZZONI (Mem. Real. Acad. Sc. Bologna, Bd. 9, 1889), ENDERLEIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), BIEDERMANN (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 96, 1888), DUBOSCQ (Arch. Zool. expér, Bd. 6, 1899), CATTANEO (Boll. Scient. Pavia. Anno 11, 1889), RENGEL (Zeit. wiss. Zool., Bd 62, 1896), SCHOENICHEN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 65, 1898), MC. MURRICH (Journ. Morph., Bd. 14, 1897), DIERCKS (Cellule, Bd. 16, 1899), FRENZEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 39 u. 41, 1892 und 93), VIGIER (Compt. rend. Assoc. Anatom. III. Session, Nancy 1901), IDE (Cellule, Bd. 7, 1891), GILSON (Cellule, Bd. 5, 1899), KORSCHELT (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), HOLMGREN (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), PRENANT (Arch. d'Anat. Micr., Bd. 3, 1900), KIMUS (Cellule, Bd. 15, 1898), RETZIUS (Biolog. Unter. N. F., Bd. 1, 1890), BETHE (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), SCHREIBER (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), KENNYON (Journ. comp. Neurol, Bd. 6, 1896), DOGIEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), BINET (Journ. de l'Anat. Phys. Anné 30, 1894), BETHE (Zeit wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), PURCELL (Zeit wiss. Zool., Bd. 58, 1894), PARKER (Mit. Zool. Stat. Neapel, Bd. 12, 1895), CREVATIN (Ric. Lab. Anat. norm. Roma, Bd. 5, 1895), ROSENSTADT (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), REDIKORZEW (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), VON ADELUNG (Zeit. wiss. Zool., Bd. 54, 1892), BETHE (Zool. Jahrb., Bd. 8, 1895), VOM RATH (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1888), CHILD (Zeit. wiss. Zool., Bd. 58, 1894), PREUSSE (Zeit. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), VOM RATH (Zool. Anz., Bd. 14, 1891), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892), BICKFORD (Zool. Jahrb., Bd. 9, 1895), GROSS (Zeit. wiss Zool., Bd. 69, 1901). HÄCKER (Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899), HERMANN (Bull. scient. France Belgique, Bd. 22, 1890), BOUIN und COLLIN (Anat. Anz., Bd. 20, 1901). VERSON (Zeit. wiss. Zool., Bd. 58, 1894). WILCOX (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 27, 1895). SCHMIDT (Zeit. wiss. Zool., Bd. 59, 1895), KLUGE (Arch. Naturgesch., 61. Jahrg., Bd. 1. 1895), SILVESTRI (Ric. Lab. Anat. norm. Roma, Bd 6, 1898), MONTGOMERY (Zool. Jahrb., Bd. 12, 1898), OBST (Zeit. wiss. Zool, Bd. 66, 1899), MUNSON (Journ. Morph., Bd. 15, 1899), PAULCKE (Zool. Jahrb., Bd. 14, 1900), KINGSLEY (Journ. Morph., Bd. 1, 1887), WELDON (Quart. Journ. Micr. Sc., Bd. 33, 1892), KISHINOUYE (Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Japan, Bd. 5, 1892), ROULE (Annal. Sc. nat. Zool., Bd. 18, 1894), BRAUER (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), HÄCKER (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), BUTSCHINSKY (Zool. Anz., Bd. 17, 1894), WAITE (Bull. Mus. Comp. Zool., Harvard, Bd. 35, 1899), HÄCKER (Arch. mikr. Anat., Bd. 46 u. 49, 1895 u. 97), MC. MURRICH (Journ. Morph., Bd. 9, 1895), PATTEN (Journ. Morph., Bd. 12, 1896), KISHINOUYE (Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Japan, Bd. 4, 1891), BRAUER (Zeit wiss. Zool., Bd. 57, 1894), WHEELER (Journ. Morph., Bd. 3, 1889), MORGAN (Amer. Nat, Bd. 22, 1888), CHOLODKOWSKY (Mém. Acad. imp. Pétersbourg, 7. série Bd. 38, 1891), HEYMONS (Zeit. wiss Zool., Bd. 53, 1892), KNOWER (Journ. Morph, Bd. 16, 1900), VAN REES (Zool. Jahrb., Bd. 3, 1888), HENKING (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1888), derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 49, 1890), MAYER (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 29, 1896), FRIEDMANN (Arch. mikr. Anat., Bd 54, 1899), SCHWARTZE (Zeit. wiss. Zool., Bd. 66, 1899), PETRUNKEWITSCH (Zool. Anz., Bd. 21, 1898), KARAWAIEW (Biol. Centr., Bd. 19, 1899). DEEGENER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), KARAWAIEW (Zeit. wiss. Zool., Bd. 64, 1898), SHELDON (Quart. Journ. Micr. Sc. 1887).

Ascidien siehe Tunikaten.

Asparagin gleich Amidobernsteinsäureamid. Von den in dem pflanzlichen Eiweissumsatz auftretenden Amiden, Asparagin, Leucin, Glutamin u. a. hat das erstere bei weitem die grösste Verbreitung (etiolirte Lupinenkeimlinge, Spargelspitzen). Zu seinem mikrochemischen Nachweis werden die Schnitte in absoluten Alkohol gebracht. Lässt man das Präparat eintrocknen, schiessen überall in den Zellen und am Deckglasrand Krystalle, meist rhombische Plättchen, auf. Von anderen Krystallen unterscheiden sie sich durch

ihre Unlöslichkeit in koncentrirter wässeriger Asparaginlösung, etwa 0,5 Grm. auf 29 Ccm. Wasser von gleicher Temperatur, BORODIN'sche Prüfung, von den ähnlich gestalteten Kalknitratkrystallen durch intensive Blaufärbung mit Diphenylamin 0,01—0,1 Grm. auf 10 Ccm. $H_2 SO_4$, von Tyrosin durch seine Rothfärbung in MILLON's Reagens (siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle). Bei 100° verwandeln sich die Asparaginkrystalle in homogene, stark lichtbrechende, in Wasser leicht lösliche Tropfen. *Magnus*, Berlin.

Litteratur: BORODIN, Einige Arbeiten ref. bei ZIMMERMANN, Bot. Mikrot. 1892, pag. 80.

Asphalt, ein wahrscheinlich durch Verharzen von Erdölen (Kohlenwasserstoffen der Sumpfgasreihe) entstandenes Produkt, das sich an manchen Orten in ziemlicher Reinheit (Todtes Meer, Trinidad) an anderen Stellen als Bestandtheil verschiedener Gesteine findet. Durch Eindicken des Theers der Gasfabriken wird gegenwärtig eine grosse Menge des technisch verwendeten Asphalts erhalten. Es ist eine schwärzliche, brennbare Masse, die bei ungefähr 100° erweicht, in Wasser ganz unlöslich, in Alkohol oder Aether wenig, in Terpentin oder Benzol völlig löslich ist.

In der mikroskopischen Technik hat eine Lösung von Asphalt in Benzol als Injektionsmasse Eingang gefunden (siehe Injektion). Ausserdem findet noch Asphaltlack als Deckglaskitt Verwendung, der nach BEHRENS folgende Zusammensetzung hat: Asphalt 450 Grm., Leinöl 225 Grm., Terpentinöl 1000 Ccm. oder Asphalt 115 Grm., Leinöl 120 Grm., Terpentinöl 280 Ccm.

Asteroideen siehe Echinodermen.

Atropin (siehe auch Alkaloide, pflanzliche) kommt bis zu 0.5% in den verschiedenen Theilen, besonders den Wurzeln von Atropa. Belladonna und Datura Stramonium vor und bildet farb- und geruchlose Krystalle, die bei 115° schmelzen. In kaltem Wasser nur zu 0,1—0.2% löslich, leicht löslich in Alkohol und Chloroform, weniger in Aether und Benzol. Die wässerige Lösung reagirt stark alkalisch. Das Atropin ist eine starke Base und bildet eine Reihe von Salzen, die in Wasser und Alkohol leicht löslich sind. Die Lösungen zersetzen sich bei längerem Stehen. Die wichtigsten dieser Salze sind das Atropinchlorhydrat, $C_{17} H_{23} NO_3 HCl$, Atropinsulfat, $(C_{17} H_{23} NO_3)_2 H_2 SO_4$, Atropinsalicylat, $C_{17} H_{23} NO_3 . C_7 H_6 O_3$.

Das Atropin findet in der experimentellen Technik vielfach Anwendung, z. B. zur Lähmung der Drüsensekretion. In der eigentlichen Mikrotechnik ist es wohl nur von THOMA zur Lähmung der Gefässmuskulatur bei Injektionen von Indigokarmin benutzt worden. Er setzt zu 100 Ccm. der Injektionsflüssigkeit 3 Ccm. einer 1%igen Lösung von Atropinsulfat.

Litteratur: THOMA (Arch. Anat., 1899).

Aufhellung pflanzlicher Gewebe. Viele lebend untersuchte pflanzliche Gewebe sind durch eingeschlossene Luft sehr undurchsichtig; sie wird vertrieben durch Erhitzung unter dem Deckglase bis zur Blasenbildung oder durch Zusatz von Alkohol oder am besten durch Einlegen in frisch ausgekochtes Wasser; auch durch mehrstündiges Einlegen in Glycerin wird die Luft vertrieben und gleichzeitig durch seinen der Zellmembran näher kommenden Brechungsindex eine gewisse Aufhellung bewirkt. Wird auch der plasmatische Inhalt meist völlig unbrauchbar (langsames Absterben mit Plasmolyse), wird Glycerin doch häufig angewandt, wenn gleichzeitig das Präparat kürzere oder längere Zeit aufbewahrt werden soll. Das Aufhellen mit ätherischen Oelen und Balsam geschieht genau wie bei thierischen Objekten, nur liegt sehr oft noch mehr wie dort die Gefahr eines Zusammenfallens und Schrumpfens vor. Empfindlichere Objekte, z. B. weitlumige Algen, werden nach ihrer Tödtung, resp. Fixirung in 10%ige Glycerinlösung ge-

bracht, man lässt vor Staub geschützt das Wasser abdunsten, schliesslich auf dem Wärmeschrank (oder auch die ganze Operation im Exsiccator) und kann dann direkt in absoluten Alkohol überführen.

Für viele zu untersuchende pflanzliche Gewebe, die durch starken Plasmagehalt undurchsichtig sind, kommt es nur darauf an, die Zellwände scharf hervortreten zu lassen (Vegetationskegel, Bau der Blätter, Gefässbündelverlauf, Embryoentwicklung etc.). In allen diesen Fällen wird durch geeignete Reagentien das Plasma zerstört (siehe auch Eiweissstoffe der Pflanzenzelle).

1. Kalilauge in den verschiedensten Koncentrationen, erwärmt in beschleunigter Wirkung, wurde hierzu früher allgemein angewandt; das Auswaschen geschieht oberflächlich in Wasser, dann in verdünnter Säure (Salz- oder Essigsäure): sollten sie zu durchsichtig sein, werden sie mit verdünnter Alaunlösung nachbehandelt. Heute werden folgende vorgezogen: 2. Chloralhydrat, besonders für Alkoholmaterial, Blätter. 8 Th. Chl., 5 Th. Wasser (Strassburger); 3. Javelle'sche Lauge (Eau de Javelle, Kaliumhypochlorit) der Apotheke oder herzustellen (Noll): Chlorkalk 20 Grm., Kaliumkarbonat 15 Grm., Wasser 200 Ccm.; Auswaschen in Wasser wiederholt, eventuell Essigsäure, wenn zu durchsichtig, Alaunlösung. Oft ist auch kurze Nachbehandlung mit koncentrirter Kalilauge zu empfehlen. Die Zellwände, z. B. Vegetationspunkt, können mit Bismarckbraun 1 Minute nachgefärbt werden oder sie kommen für 1—2 Minuten in verdünnte Tanninlösung und möglichst rasch durch sehr verdünnte Eisenchloridlösung. Aufbewahren in Glycerin oder Kanadabalsam.

Litteratur: Strassburger, Gr. Prakt.

Gepresste Pflanzen werden zur Untersuchung einige Zeit in verdünnter Kalilauge aufgekocht, eventuell auch mit Eau de Javelle oder Chloralhydrat behandelt.

Litteratur: Overton (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890). *Magnus*, Berlin.

Aufhellungsmittel. Um Schnitte oder auch dickere Präparate aufzuhellen, kann man einmal chemische Mittel anwenden, welche gewisse Theile des Präparates gänzlich auflösen oder sie quellen und dadurch durchsichtiger machen. Andererseits aber, und das geschieht wohl in der Mehrzahl der Fälle, durchtränkt man die Schnitte oder Stücke mit einem flüssigen Medium von hohem Brechungsindex.

Zu den Aufhellungsmitteln der ersteren Art gehören vor allem Kalilauge, Eau de Javelle, Kaliumacetat, Karbolsäure, Essigsäure und andere organische Säuren, zu der zweiten Kategorie sind zu rechnen die zahlreichen ätherischen Oele, Xylol, Anilin, Pyridin, Glycerin, Kreosot. Auf der Grenze beider stehen Chloralhydrat und Natriumsalicylat.

Die Aufhellungsmittel haben in der heutigen thierischen Mikrotechnik mit der exakten Ausbildung der Einbettungs- und Mikrotomtechnik viel von ihrer früheren Bedeutung eingebüsst.

Im folgenden seien einige der gebräuchlichsten Aufhellungsmittel mit ihren Brechungsindices angeführt: Bergamottöl 1,464, Terpentinöl 1,473, Ricinusöl 1,481, Cedernöl 1,510, Cedernöl eingedickt 1,520, Nelkenöl 1,533, Anisöl 1,577, Glycerin 1,473, Kaliumacetat 1,370, Chloroform 1,449, Toluol 1,496, Xylol 1,497, Benzol 1,501, Dammarharz 1,520, Kanadabalsam 1,535, Kreosot 1,538, Karbolsäure 1,550, Anilin 1,588, Schwefelkohlenstoff 1,628, Tolubalsam 1,640, Monobromnaphthalin 1,661.

Aufklebemethoden für Paraffinschnitte. Wie es mit der fortschreitenden Entwicklung der Einbettungstechnik und der Mikrotomie möglich wurde, immer feinere Schnitte herzustellen, so wuchs damit zugleich

die Schwierigkeit, diese zarten Objekte unversehrt in das Untersuchungsmedium zu bringen. Mehr und mehr sah man sich genöthigt, entweder die Paraffinschnitte dadurch widerstandsfähiger zu machen, dass man sie nachträglich in Celloidin einschloss, oder aber die Schnitte, sei es auf besonderen Glimmerplättchen oder das Deckgläschen, sei es direkt auf den Objektträger aufzukleben. Die letztere Methode hat wohl am meisten Anklang gefunden, und es sind demgemäss im Laufe der Jahre eine grosse Anzahl von Verfahren angegeben worden, die eine Befestigung der Schnitte auf der Unterlage bezweckten. Doch nur wenige haben eine grössere Verbreitung gefunden. Die meisten Klebemittel zeigten nämlich Uebelstände: entweder durften sie mit bestimmten Flüssigkeiten (Alkohol, Wasser) nicht in Berührung kommen, ohne dass die Schnitte sich ablösten, oder aber sie färbten sich bei einer nachträglichen Tinktion der Präparate so stark mit, so dass, wenn auch die Untersuchung vielleicht nicht beeinträchtigt wurde, die Präparate jedenfalls ein unsauberes, unschönes Aussehen erhielten. Ein für alle Fälle gleichmässig brauchbares Verfahren ist überhaupt noch nicht aufgefunden worden. Doch haben sich einige Methoden in der Praxis für bestimmte Zwecke gut bewährt, und wesentlich diese sollen im folgenden einer Besprechung unterzogen werden.

Eines der ältesten Verfahren, Schnitte auf dem Objektträger zu befestigen, ist wohl das von Giesbrecht angegebene. Giesbrecht (1881) überzieht mittels eines Glasstabes die Objektträger mit einer nicht zu koncentrirten, gut filtrirten Lösung von braunem Schellack in absolutem Alkohol. Die so vorbereiteten Objektträger können trocken aufbewahrt werden. Vor dem Schneiden bepinselt man den Schellacküberzug ganz dünn mit Kreosot, legt die Schnitte auf und lässt dann auf dem Wasserbad das Kreosot verdunsten. Hierzu ist, wenn die Temperatur etwa dem Schmelzpunkt des Paraffins entspricht, $^1/_4$ Stunde erforderlich. Das Paraffin kann nun durch Terpentin entfernt werden, ohne dass die Schnitte aus ihrer Lage kommen. Nach Einschluss in Kanadabalsam ist der Schellacküberzug, wenn er nur dünn und gleichmässig ist, nicht mehr wahrzunehmen.

Diese Aufklebemethode ist lange Zeit fast ganz ausser Gebrauch gekommen, wesentlich wohl deshalb, weil eine nachträgliche Färbung der Schnitte nicht möglich ist, und häufig selbst solche, die einer weiteren Behandlung nicht unterzogen werden sollten, schon bei Auflösung des Paraffins wegschwammen. Neuerdings hat aber P. Mayer (1898) in seiner Ueberarbeitung des Lee'schen Vademecums sie wiederum empfohlen, indem er sie für die bequemste erklärt bei solchen Schnitten, die weder besonders geglättet, noch auch nachgefärbt werden sollen. Um ein ganz sicheres Haften der Schnitte zu erzielen, muss man nach Mayer sich eine Schellacklösung beschaffen, die nach dem Erkalten auf dem Objektträger beim Darauffassen des Fingers nur einen ganz schwachen Eindruck bekommt. Ist der Schellack weicher oder ganz hart, so haften die Schnitte nicht recht fest; doch kann man im letzteren Fall durch Bestreichen mit Nelkenöl nachhelfen. Man löst den Schellack in absolutem Alkohol, indem man vom braunen 1:20, vom gebleichten 1:5 nimmt, lässt absetzen, filtrirt und lässt dann nochmals einige Tage absetzen. Mit dieser Lösung überstreicht man den gut erwärmten Objektträger, lässt erkalten, legt die Schnitte auf, indem man sie mit dem Pinsel andrückt, schmilzt das Paraffin über der Flamme und kann nun sofort durch Entfernung des Paraffins in Balsam einschliessen. Mayer hebt hervor, dass der Klebstoff vollständig zuverlässig sei, da auf diese Weise aufgeklebte Schnitte tagelang senkrecht in Xylol stehen können, ohne sich abzulösen. Demnach würde sich allerdings gegenüber den später zu besprechenden Methoden immerhin eine Ersparniss an Zeit und auch z. B. gegenüber der Eiweissmethode an absolutem Alkohol ergeben.

Um die nach der GIESBRECHT'schen Methode aufgeklebten Schnitte nachträglich färben zu können, sind verschiedene Verfahren ersonnen worden. So empfiehlt FRENZEL (1883), die Schnitte nach Entfernung des Paraffins mit einer dünnen Lösung von Guttapercha in Chloroform (1:100) zu überziehen, wodurch sie nach Eintrocknen des Guttaperchas vollkommen fest am Objektträger hafteten. Doch sind diese Abänderungen durch die neueren Methoden überflüssig geworden.

Eine zweite Methode ist das Aufkleben der Schnitte mittels Kollodium, das mit Nelkenöl oder Ricinusöl vermischt ist. Zuerst wurde sie von SCHÄLLIBAUM (1883) angegeben, der 1 Theil Kollodium mit 3—4 Theilen Nelkenöl mischte und davon ein wenig auf den Objektträger aufpinselte. Nachdem die Schnitte aufgelegt sind, wird auf dem Wasserbad erwärmt, bis das Oel verdunstet ist, worauf die Schnitte fast allen Proceduren des Färbens u. s. w. unterworfen werden können. Vermieden werden muss natürlich absoluter Alkohol, da dieser ja das Kollodium auflösen würde. Allzusicher scheint diese Methode nicht zu sein, oder jedenfalls die Klebefähigkeit der Mischung Veränderungen zu unterliegen. So giebt z. B. RABL (1894) an, dass die Mischung alle 4 bis 5 Tage erneuert werden müsse, wenn man sich vor dem Verlust von Schnitten sichern wolle. STRASSER (1887) klebt mit einem Gemisch von Kollodium 2 Theile, Aether 2 Theile, Ricinusöl 3 Theile oder (1889) Kollodium 2 Theile, Ricinusöl 1 Theil auf und überstreicht dann die Schnitte mit einer Mischung Kollodium duplex 2—3 Theile, Ricinusöl 1 Theil. Die so montirten Objektträger werden dann bis zur vollständigen Lösung des Paraffins in Terpentinöl gebracht. In diesem Bad erhärtet zugleich das Kollodium, so dass die Schnitte vollständig festsitzen.

Eine weitere Aufklebemethode, die vor den bisher angeführten den grossen Vorzug hat, ohne Gefahr die Schnitte nachträglich färben zu können, ist die von P. MAYER (1883) angegebene Eiweiss-Glycerinmethode. Das Weisse eines Hühnereies wird mit derselben Menge ganz reinen Glycerins gut gemischt (am besten längere Zeit mit einem Holzstäbchen geschlagen) und filtrirt. Das Filtriren dauert längere Zeit bis zu einigen Tagen. Um das Verderben der Mischung zu verhüten, füge man sowohl der im Filter befindlichen wie der bereits filtrirten Flüssigkeit etwas Kampher oder Natriumsalicylat zu.

Von diesem Gemisch bringt man mittels eines Pinsels oder Glasstäbchens ganz wenig auf den Objektträger und verreibt es dann tüchtig mit dem Finger. Die Schnitte haften um so besser, je dünner die Masse verrieben worden ist; man nehme deshalb ja nicht zu viel und wische eventuell nach dem Verreiben nochmals kräftig mit dem Handballen über den Objektträger. Selbstverständlich müssen Finger, beziehungsweise Ballen vorher abgerieben sein, um nicht abgestossene Epithelien oder Schmutzpartikelchen auf das Eiweiss zu bringen. Alsdann lege man die Schnitte auf, drücke sie je nach ihrer Beschaffenheit mit dem Finger oder dem Pinsel etwas an und erwärme den Objektträger auf dem Wasserbad oder über der Flamme, bis das Paraffin anfängt zu schmelzen. Durch die Koagulation des Eiweisses haften die Schnitte dann so fest, dass fast alle Färbeproceduren mit ihnen vorgenommen werden können. Nur Flüssigkeiten, die Eiweiss lösen, sind zu vermeiden, wozu starke Säuren und Alkalien, sowie auch Pikrokarmin gehören. Doch spielen diese im allgemeinen in der Färbetechnik keine grosse Rolle mehr.

Handelt es sich um Schnitte, die nicht weiterbehandelt werden sollen, so darf nach Entfernung des Paraffins durch Xylol u. ä. nicht sofort in Balsam eingeschlossen werden, da das im Unterguss vorhandene Glycerin mit der Zeit Trübungen verursachen würde. Vielmehr muss dieses zunächst entfernt werden, wozu aber kurzes Verweilen in absolutem Alkohol genügt.

Eine weitere Unbequemlichkeit ergiebt sich daraus, dass das Eiweiss sich bei verschiedenen Färbemethoden etwas mitfärbt. Wenn es indessen in genügend dünner Schicht aufgetragen ist, dürfte dieser Umstand wohl nur selten störend wirken.

Schliesslich, und das hat diese Methode mit der GIESBRECHT'schen und SCHÄLLIBAUM'schen gemeinsam, lassen sich die feinen Fältchen aus den Schnitten nur unvollkommen entfernen. Wenn die Schnitte nicht gar zu fein und hinfällig sind, kann man sie vor dem Auflegen auf die Klebemasse vorsichtig auf einem reinen Glasstückchen oder auf glattem Papier mit Hilfe eines feinen Pinselchens auszubreiten versuchen.

Unbegrenzt haltbar scheint die Masse nicht zu sein. So macht VOSSELER (1890) darauf aufmerksam, dass nach etwa einem halben Jahre das Eiweiss bräunlich werde und seine Klebekraft sich vermindere. Besonders zeige sich das bei Schnitten durch Knorpel, Sehne u. s. w. P. MAYER (1898) hat dies nicht gefunden. Zwar ist sein Gemisch auch braun geworden, hat aber seine Klebefähigkeit behalten.

RABINOVICZ (1890) giebt noch an, dass man das Eiweiss nicht zu koaguliren brauche, sondern dass man die Objektträger ohne vorheriges Erwärmen direkt in Toluol legen könne. Bei feinen, nicht allzu umfangreichen Schnitten gelingt es in der That, sie auf diese Weise aufzukleben und zu färben. (Der absolute Alkohol koagulirt ja ebenfalls das Eiweiss.)

Grössere Schnitte zeigen aber doch eine bedenkliche Neigung zum Ablösen, so dass das Erhitzen, das ja nur wenige Sekunden in Anspruch nimmt, auf alle Fälle anzurathen ist.

Die ebenfalls relativ frühzeitig angegebene Methode des Aufklebens der Paraffinschnitte mit Wasser, beziehungsweise verdünntem Alkohol hat erst im letzten Jahrzehnt grössere Verbreitung gewonnen, trotzdem sie für einen sehr grossen Theil der Präparate geradezu als Idealmethode angesehen werden kann.

Auf den gut gereinigten Objektträger bringt man eine nicht zu geringe Menge Wassers (destillirtes oder Leitungswasser). Auf dieses werden die Schnitte aufgelegt und dann der Objektträger, vor Staub geschützt, aufbewahrt, bis das Wasser vollständig verdunstet ist. Will man die Verdunstung beschleunigen, so kann man die Objektträger in einen Wärmekasten, beziehungsweise an einen sonstigen warmen Ort legen, vorausgesetzt, dass die Temperatur dem Schmelzpunkt des verwandten Paraffins nicht zu nahe kommt.

Die Schnitte pflegen infolge der kapillären Adhäsion meist vollständig fest am Objektträger zu haften, so dass man sie sogar der künstlichen Verdauung unterziehen kann, ohne dass die einzelnen Theile ihre Lagebeziehung zu einander ändern.

Beim Auflegen des Schnittes pflegt sich dieser in gewisser Weise bereits zu strecken, beziehungsweise aufzurollen. Die feinen Fältchen indessen verschwinden noch nicht. Um dies zu erreichen, erwärmt man den Objektträger bis annähernd zum Schmelzpunkt des Paraffins. Am bequemsten geschieht dies in einem Thermostaten von geeigneter Temperatur oder aber auf dem BORN'schen (1888) Wärmetischchen. Letzteres besteht aus einer auf 4 Füssen ruhenden Messingplatte, unter deren eines Ende ein Gasbrenner, beziehungsweise eine Spirituslampe gestellt wird. Dieser Theil ist aufgebogen, um nicht den ganzen Tisch unnöthig hoch zu machen. Durch Regulirung der Flammen lässt sich die Temperatur des Tischchens beliebig verändern. Am besten prüft man, an welcher Stelle die richtige Wärme erreicht ist, indem man einen in der beschriebenen Weise montirten Objektträger auf das freie Ende auflegt und ihn dann nach der Flamme zu verschiebt, bis die vollständige Streckung des Schnittes stattfindet. Bei werthvollen Objekten ist

es natürlich angebracht, zu dieser Feststellung Schnitte von einem andern Paraffinblock desselben Schmelzpunktes zu verwenden. Meist sind diese Hilfsmittel indessen überhaupt nicht nöthig. Denn bei einiger Uebung gelingt es leicht, durch direktes Erwärmen des Objektträgers über der Flamme ein vollständiges Ausbreiten des Schnittes zu erzielen, ohne dass das Paraffin schmilzt.

Wichtig ist es zu beachten, dass der Objektträger vollkommen rein sein muss. Das Wasser muss sich auf ihm nach allen Seiten gleichmässig ausbreiten. Geschieht dies nicht, so ist anzurathen, nach einem andern Objektträger zu greifen. Doch giebt es Hilfsmittel, die aber auch nicht absolut sicher sind, um ein gleichmässiges Ausbreiten des Wassers trotzdem zu ermöglichen. So z. B. empfiehl Lee (1898), ein wenig Speichel kräftig auf dem Glas zu verreiben, danach in Wasser abzuspülen und den Objektträger sofort in Benützung zu nehmen. Heidenhain (1892) reibt den Objektträger mit einem nassen Tuche gründlich ab. Gelegentlich ist es auch wirksam, wenn statt reinen Wassers dünner Alkohol (30—50%) angewandt wird.

Aber auch, wenn das Wasser auf dem Objektträger sich gut ausgebreitet hat, können sich die Schnitte bei der Weiterbehandlung dennoch ablösen, und zwar geschieht dies besonders leicht beim Uebertragen von Alkohol in Wasser. Die Schuld daran kann sein, dass das Wasser nicht vollständig abgedunstet war, besonders bei sehr grossen Schnitten. Doch ist dies nach 24stündigem Trocknen wohl kaum mehr der Fall. Zumeist dürfte die Beschaffenheit des Schnittes selbst die Veranlassung sein. So zeigen die Schnitte von Osmium- oder Chromsäurematerial fast immer Neigung zum Ablösen, so dass für diese andere Aufklebemethoden zweckentsprechender sind (Schnitte aus Müller'scher und Zenker'scher Flüssigkeit können indessen im allgemeinen unbesorgt in dieser Weise angeklebt werden). Ebenso haften Schnitte von Knorpel, entkalktem Knochen, Sehnen u. ä. nicht sicher am Glas. Schliesslich ist noch darauf zu achten, dass die Schnitte nicht zu dick sind. 25 μ dürfte wohl die grösste Dicke sein, bei der sie selbst unter günstigen Bedingungen sicher fest bleiben.

Ferner ist sehr darauf zu achten, dass beim Strecken des Schnittes, besonders über der freien Flamme, das Paraffin nicht schmilzt. Denn dann überzieht sich das ganze Objekt mit einer dünnen Paraffinschicht, die zwar ihrerseits am Glas schön antrocknet, aber nachher im Xylol gelöst wird, wobei natürlich das Gewebe selbst frei wird. Ueberhaupt ist ein übermässiges Erwärmen den Objekten nicht günstig, indem das Gewebe mehr oder weniger darunter leidet. So giebt Heidenhain (1892) an, dass bei zu starkem Erwärmen in den Kernen wie in dem Protoplasma störende Schrumpfungserscheinungen aufträten.

Gewisse Schwierigkeiten macht es zunächst, Serien in dieser Weise anzutrocknen, ohne dass die Schnitte dabei durcheinander schwimmen. Zunächst ist hierbei noch mehr wie bei Einzelschnitten auf vollkommene Reinheit des Objektträgers zu achten, damit nicht doch einzelne Schnitte sich ablösen. Dann bringt man zunächst nur soviel Wasser auf den Objektträger, dass gerade eine Schnittreihe Platz hat. Ist diese aufgelegt, so wird Wasser für die zweite Reihe aufgetragen u. s. w. Man muss nur darauf achten, dass die Flüssigkeit nicht etwa unter den ersten Schnitten austrocknet, ehe die letzten aufgelegt sind. Liegen alle Schnitte in Ordnung, so lasse man vorsichtig noch etwas Wasser darunter fliessen, damit sie sich ordentlich ausstrecken können und verfahre dann wie bei Einzelschnitten. Auf diese Weise gelingt es ohne Mühe, selbst eine sehr grosse Zahl von Schnitten auf einem Objektträger zu befestigen. Hat man Bänder geschnitten, so erleichtert sich das ganze Verfahren noch bedeutend.

Eine Frage ist es, inwieweit diese Methode für bereits gefärbte Schnitte anwendbar ist? Nach Lee (1898) greift das Wasser besonders beim

Erwärmen manche Farben etwas an oder zieht sie aus. Bei dem sehr häufig zur Stückfärbung benutzten alkoholischen Boraxkarmin ist indessen eine schädliche Wirkung nicht zu bemerken, ebensowenig beim Hämalaun nach P. MAYER.

Zuerst ist diese Methode wohl von GAULE (1881) angewandt worden. Dieser benetzte die Objektträger mit Alkohol, ordnete darauf die Schnitte, liess abdunsten und schmolz dann das Paraffin. Gefärbt hat GAULE auf dem Objektträger nicht, er giebt nur an, dass man das Paraffin in Xylol lösen und dabei die Objektträger neigen könne, ohne dass die Schnitte sich ablösten.

Von Abänderungen der Methode seien folgende erwähnt. NUSSBAUM (1896) setzt dem Wasser eventuell etwas Gummi arabicum zu. GULLAND (1891) fängt die Schnitte zunächst in einer Schale mit Wasser auf, das soweit erwärmt ist, dass sie sich gerade strecken, und bringt sie dann auf den Objektträger. ALBRECHT und STOERK (1896) verwandeln die Paraffingewissermassen in Celloidinschnitte, indem sie dieselben auf kaltem Wasser durch wiederholtes Anhauchen sich strecken lassen, dann mittels faserfreien. mit absolutem Alkohol befeuchteten Filtrirpapiers an den Objektträger andrücken, damit zugleich das Wasser entfernend. Das Paraffin wird mit Xylol entfernt. das letztere durch absoluten Alkohol weggebracht und dann der Objektträger mit einer ganz dünnen Schichte Celloidin überzogen. Mit Ausnahme von Osmiumpräparaten soll sich diese Methode bei allen Objekten anwenden lassen, nur muss natürlich absoluter Alkohol bei der Weiterbehandlung vermieden werden. Als Vortheil wird die kürzere Zeitdauer des ganzen Verfahrens hervorgehoben.

Wegen des Umstandes, dass vielfach die mit Wasser, beziehungsweise Alkohol aufgeklebten Schnitte sich doch nachträglich vom Objektträger ablösten, andererseits das Aufkleben mit wirklichen Klebstoffen ein vollkommenes Glätten der Schnitte nicht gestattet, sind eine Reihe von Kombinationen erfunden worden. Hierher wäre auch die Methode von NUSSBAUM (s. o.) zu rechnen. DUVAL (1891) nimmt eine stark verdünnte Eiweisslösung, die er in derselben Weise verwendet wie reines Wasser. GEBHARDT (1897) giebt Wasser auf einen mit STRASSER'schem Ricinusöl-Kollodium bestrichenen Objektträger und legt dann die Schnitte auf.

Die meiste Verbreitung hat wohl das Verfahren von HENNEGUY (1891) gefunden, das später, wie REINKE (1895) berichtet, von dem Japaner IKEDA ebenfalls angewandt wurde und deshalb vielfach als »japanische Aufklebemethode« bezeichnet wird. Die mit P. MAYER'schem Eiweissglycerin in dünnster Schicht bestrichenen Objektträger werden mit Wasser beschickt, die Schnitte aufgelegt, geglättet und angetrocknet. REINKE koagulirt das Eiweiss vor dem Auflegen der Schnitte bei etwa 70°, da bei der nachträglichen Koagulation durch den Alkohol noch Schrumpfungen im Gewebe auftreten könnten. Aehnlich verfährt auch MANN (1894); dieser verdünnt das Eiweiss mit dem 10fachen Volumen Wasser, bestreicht mit dieser Lösung die Objektträger und lässt sie trocknen. An die so vorbereiteten Objektträger lässt er dann die vorher auf warmem Wasser geglätteten Schnitte antrocknen.

Diese Kombination der Eiweiss- und Wassermethode ist äusserst zweckmässig. Auch Schnitte aus Chrom- und Osmiumsäure haften absolut sicher. Nur zeigt sie natürlich auch den Uebelstand, dass eventuell die Eiweissschicht sich mitfärbt. Zu Beobachtungsfehlern dürfte aber dieser Umstand wohl kaum je Veranlassung geben, zumal man das Eiweiss fast unbegrenzt dünn verreiben kann, und es ausserdem gerade an den Stellen, an denen Paraffin angetrocknet war, äusserst geringe Neigung zeigt, Farben anzunehmen.

Bei Schnitten, die grössere Knorpeltheile oder entkalkten Knochen enthalten, ist es zweckmässig, das Eiweiss zunächst nicht zu koaguliren, sondern die Schnitte, nachdem sie aufgelegt und geglättet sind, sowie das überschüssige Wasser abgelaufen ist, mit dem trocknen Finger anzupressen. Selbst bei relativ dünnen Schnitten kann dies bei einiger Vorsicht unbesorgt gemacht werden. Nach dem Antrocknen koagulire man dann das Eiweiss in einer der oben angegebenen Weisen, am einfachsten über der Flamme. Dann halten auch diese sonst schwer am Objektträger zu befestigenden Schnitte in den allermeisten Fällen vollkommen fest.

Ausser den angeführten sind im Laufe der Zeit noch eine ganze Reihe von Aufklebemethoden angegeben worden, die aber keine grössere Verbreitung gefunden haben. Theils sind sie komplicirt oder nicht sicher, theils sind sie einer allgemeineren Anwendung nicht fähig. So ist Gummi arabicum von Flögel (1883) und Frenzel (1885) angegeben worden. Letzterer setzt zu einer dünnen wässerigen Lösung noch etwas Chromalaun und Glycerin zu. Born und Wieger (1885) nehmen eine Mischung von 1 Theil Glycerin mit 2 Theilen Quittenschleim. Gelatine allein ist von Perrier (1890), Gelatine mit Zusatz von Kalium bichromicum von Walsem (1894) und Dixon (1898) empfohlen worden. Der Zusatz des Chromsalzes soll nach Einwirkung von Sonnenlicht die Gelatine unlöslich und zugleich für die meisten Farbstoffe unempfänglich machen. Speciell den ersteren Zweck suchte Alleger (1894) durch Zusatz von Formol, Koninski (1895) durch nachheriges Eintauchen des Objektträgers in Formol zu erreichen.

Erwähnenswerth ist schliesslich noch die Methode von Obregia (1890), die bezweckt, Paraffin- in Celloidinschnitte umzuwandeln. Man stelle sich eine Mischung von 3 Theilen Zuckersyrup, 1 Theil Dextrinsyrup und 2 Theilen 95%igen Alkohols her. Mit dieser überzieht man die Objektträger oder auch grössere Glasplatten (sehr brauchbar sind alte photographische Platten, etwa 9 × 12), die man zweckmässig vorher mit Alkohol und Aether gründlich abgerieben hat. Dann lässt man sie vor Staub geschützt liegen, bis die Syrupschicht gerade noch klebt, was bei Zimmertemperatur etwa 48 Stunden, im Brütofen 6—8 Stunden in Anspruch nimmt. Die Schnitte werden dann angedrückt, das Paraffin in Xylol gelöst, die Platten in absoluten Alkohol übertragen und schliesslich mit einer dünnen Kollodium- oder Photoxylinlösung übergossen. Wenn diese soeben trocken geworden ist, werden sie zunächst in 80%igen Alkohol, dann in Wasser übertragen, worin sich der Zucker auflöst und so das Kollodiumhäutchen mit den Schnitten frei wird.

Die Methode bietet einmal den Vortheil, dass auch in Paraffin eingeschlossene Objekte den für Celloidinpräparate angegebenen Färbemethoden unterworfen werden können, was vor allem für das Centralnervensystem in Betracht kommt. Ferner ermöglicht sie es, aus Serien bestimmte Schnitte herauszugreifen und beliebig weiter zu behandeln, ohne dass die übrigen ihre Reihenfolge verändern, und so für spätere Untersuchungen bequem aufbewahrt werden können. In dieser Weise können übrigens auch Celloidinschnitte, sowie Schnitte aus gar nicht eingebettetem Material behandelt werden.

Unter den beschriebenen Methoden wird sich wohl für jeden Fall eine passende finden lassen. Im allgemeinen sind für Schnitte aus durchgefärbten Objekten die von Giesbrecht und Schällibaum die zweckmässigsten. Für Schnitte, die gefärbt werden sollen und bei denen etwaige feine Fältchen nichts schaden, empfiehlt sich die Anwendung des Mayer'schen Eiweissglycerins. Für alle Schnitte aber, bei denen es auf absolute Faltenlosigkeit ankommt, also bei den meisten feineren histologischen Untersuchungen, sowie bei Serien, nach denen modellirt werden soll, ist nur das Antrocknen mit

Wasser, beziehungsweise Alkohol möglich, eventuell unter Kombination mit der Eiweissmethode.

Litteratur: Giesbrecht (Zool. Anz., Bd. 4, 1881), A. B. Lee und Paul Mayer (Grundzüge der mikroskopischen Technik, 1898), Frenzel (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), Schällibaum (Arch. mikr. Anat., Bd. 22, 1883), Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1898), Strasser (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Strasser (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), P. Mayer (Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. 4, 1883), Vosseler (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Rabinowicz (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Born (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), Heidenhain (Fest. Kölliker, Leipzig 1892), Gaule (Arch. Phys., 1881), Nussbaum (Anat. Anz., Bd. 12, 1896), Gulland (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1891), Albrecht und Störk (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), Duval (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 27, 1891), Gebhardt (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), Henneguy (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 27, 1891), Reinke (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), Mann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Flögel (Zool. Anz., Bd. 6, 1883), Frenzel (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), Born und Wieger (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885). Perrier (Ann. Sc. Nat. [7], Bd. 8, 1890), Walsem (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Dixon (Zeit. wiss Mikr., Bd. 15, 1898), Alleger (Proc. Amer. Micr. Soc., Vol. 15, 1894), Koninski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), Obregia (Neurol. Centr., Bd. 9, 1890). *Thomé*, Strassburg.

Auflösen der Mittellamelle der Pflanzenzelle siehe Macerationsverfahren für pflanzliche Gewebe.

Auge siehe Sehorgan.

Auramin, das Chlorhydrat des Amidotetramethyl-diamido-diphenylmethans (Ludwigshafen, Höchst), gelbes Pulver, das in heissem Wasser und Alkohol leicht löslich ist. In Schwefelsäure unter Entfärbung löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure dunkelgelb, mit Natronlauge entsteht ein weisser Niederschlag. In der technischen Färberei mit Tannin-Brechweinstein verwendet.

Von Vinassa zur Färbung pflanzlicher Objekte empfohlen.

Von Fischel zur vitalen Färbung von Salamandralarven benutzt, dünne Lösungen sind ungiftig und bewirken eine Gelbfärbung des Thieres. Der Farbstoff findet sich in den Leydig'schen Zellen des Epithels.

Kühne verwendet eine Lösung von Auramin oder Fluorescin in Nelkenöl (durch Verreiben hergestellt) zum Differenziren von Methylenblaufärbungen.

Litteratur: Vinassa (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), Fischel (Anat. Hefte, 52/53, 1901), Kühne (Zeit. Hyg., Bd. 8, 1896).

Aurantia, syn. Kaisergelb, Ammonium- oder Natriumsalz des Hexanitodiphenylamin, $N(C_6H_2(NO_2)_3)_2NH_4$. Gelbes Pulver oder rothbraune Krystalle, in Wasser und Alkohol löslich. Mit Salzsäure gelber Niederschlag, mit Natronlauge tiefgelbe Lösung, in Schwefelsäure blassgelbe Lösung, in der bei Zusatz von Wasser ein gelber Niederschlag entsteht. Wird in der praktischen Färberei in schwefelsaurer Lösung zum Färben von Wolle und Seide verwendet, soll aber unangenehme Hautaffektionen verursachen.

Nach Galeotti wirkt es stark giftig. Zur Doppelfärbung nach Hämatoxylin in koncentrirter wässeriger, mit Essigsäure leicht angesäuerter Lösung empfohlen. Siehe auch Indulin.

Aurin. Farbstoff der Triphenylmethanreihe, der in reinem Zustand aus p-Rosolsäure besteht, das Handelsprodukt, englischer oder französischer Herkunft ist ein Gemisch von Corallinphthalin, Pseudorosolsäure etc. Gelbe Stücke, die in Wasser unlöslich, in Alkohol mit gelber Farbe löslich sind.

Auronatrium chloratum siehe Goldmethoden.

Aurum chloratum siehe Goldmethoden.

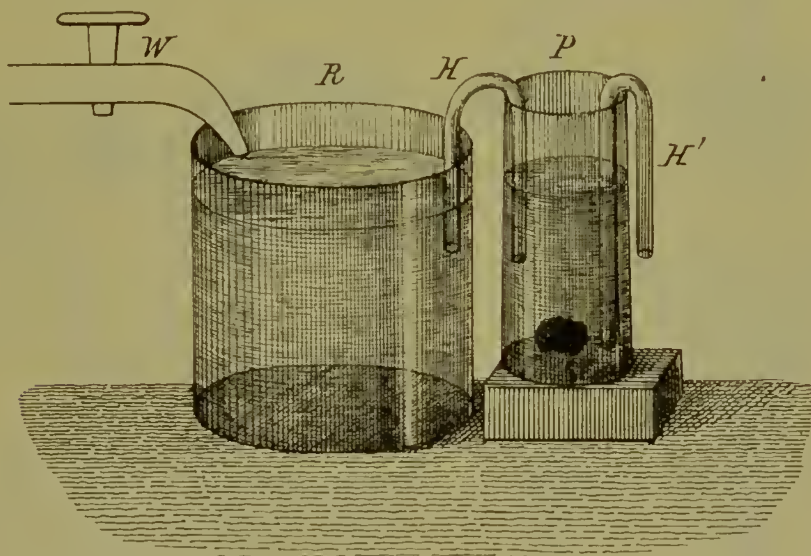
Auswaschen. Das Auswaschen hat meistens den Zweck, chemische Agentien, welche durch unsere Behandlungsmethode in die Präparate hineingebracht worden sind, wieder aus denselben zu entfernen, indem man sie mit einem passenden Lösungsmittel behandelt; in den weitaus meisten Fällen

wird dieses Lösungsmittel Wasser sein, in selteneren Fällen Alkohol oder ein anderes flüssiges Medium.

Meistens handelt es sich darum, Fixationsmittel, mit welchen wir die Objekte fixirt haben, nach vollendeter Fixation wieder auszuwaschen. Um dies gründlich zu besorgen, muss die Waschflüssigkeit öfters gewechselt werden, und am gründlichsten wird das natürlich geschehen, wenn man einen kontinuirlichen Flüssigkeitsstrom durch das die Präparate enthaltende Gefäss schickt.

Solche Präparate, welche in gewöhnlichem Wasser gewaschen werden sollen, schliesst man am besten an die Wasserleitung an. Man soll das Wasser aus dem Hahn dabei nicht direkt in das das Präparat enthaltende Glas leiten, sondern ein etwas grösseres Glas als Reservoir dazwischen schalten. Um ein Ueberlaufen des Präparatenglases *(P)* zu vermeiden, muss dasselbe etwas höher stehen als das Reservoir *(R)*. Beide verbindet man durch einen kleinen Heber *(H)*, den man sich leicht aus einem Stück dünnen Glasrohrs zurechtbiegen kann. Ein zweiter Heber *(H')*, der in dem Präparaten-

Fig. 1.



glas hängt, sorgt für einen kontinuirlichen Abfluss des Waschwassers. Derselbe soll mit seinem einen Schenkel bis auf den Boden des Präparatenglases reichen. Da es sich ja meist um Fixationslösungen handelt, die schwerer wie Wasser sind, so wird sich am Boden um das hier befindliche Objekt herum eine stark Fixationsflüssigkeit haltige Wasserschicht bilden, die abgeführt werden muss. Um ein Ansaugen des Präparates zu vermeiden. soll das Ende des Hebers höchstens 1 Mm. vom Boden des Glases entfernt sein. Handelt es sich um sehr kleine Präparate oder dünne Fasern, so umbindet man zweckmässig das im Präparatenglas befindliche Ende des Hebers mit einem Stückchen Gaze.

Man kann auf diese Weise eine beliebige Anzahl von Präparaten zu gleicher Zeit auswässern, da man an das Reservoir eine beliebige Anzahl von Hebern anhängen kann, nur muss dann der Wasserzufluss gehörig regulirt werden. Ganz in gleicher Weise können natürlich auch Schnitte ausgewässert werden.

Soll anstatt mit Leitungswasser mit destillirtem Wasser oder Alkohol ausgewaschen werden, so tritt an die Stelle der Wasserleitung ein höherstehendes Gefäss mit der betreffenden Flüssigkeit.

Es ist eine grosse Anzahl von mehr oder weniger komplicirten Apparaten für das Auswässern angegeben worden. Ganz brauchbar erscheint z. B. der nebenstehende kleine Apparat von CRUZ. Er legt die auszuwaschenden Präparate in ein in einem Halter befestigtes trichterförmiges Glas. Ueber ihm befindet sich ein etwas kleinerer umgekehrter Trichter an demselben Stativ befestigt. Der Zwischenraum zwischen Glaswand und unterem Rand des Trichters wird so regulirt, dass er für die Präparate undurchgängig ist. Das Wasser fliesst von oben durch einen Schlauch zu, läuft über den Rand des Wassergefässes über und wird unten von einem Trichter aufgefangen.

Von anderen Wässerungsvorrichtungen seien noch die ursprünglich für Schnittbehandlung gedachten Siebdosen von STEINACH und die Porzellansiebe von FAIRCHILD erwähnt. Die ersteren bestehen aus einer auf drei Füssen ruhenden Glasdose, deren Boden eine grosse Anzahl Löcher enthält. Um Kapillarwirkung möglichst auszuschliessen, sind diese Löcher trichterförmig mit unterer, weiterer Oeffnung gebohrt. Das ganze Sieb steht entweder in einer etwas grösseren, die Wasch- oder Färbeflüssigkeit enthaltenden Glasdose oder wird direkt, wie das ZIMMERMANN thut, in einem Reservoir unter die Wasserleitung gebracht.

Fig. 2.

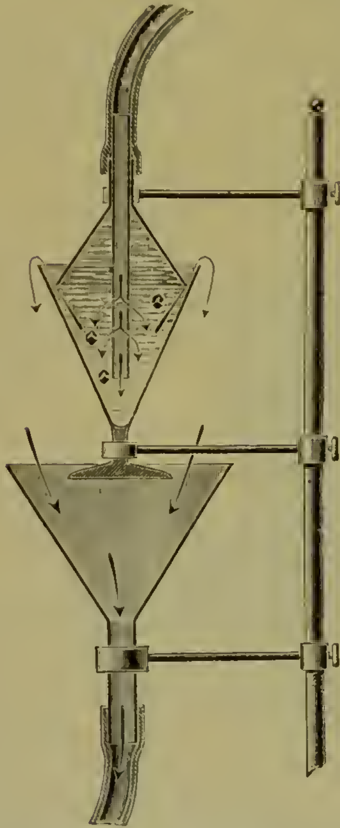


Fig. 3.



Die FAIRCHILD'schen Porzellansiebe (Fig. 3) sind grössere oder kleinere durchlöcherte Porzellancylinder, die durch einen Kork geschlossen und dadurch in fliessendem Wasser schwimmend gehalten werden.

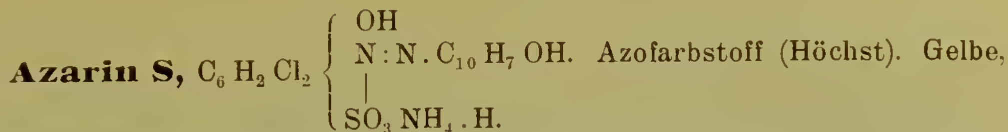
Weniger praktisch erscheint uns die Waschvorrichtung von KOLSTER. Sie gleicht mit geringen Aenderungen der zuerst von uns beschriebenen Anordnung, nur lässt er das Zuflussrohr bis zum Boden des Waschgefässes gehen, während der Abfluss an dem oberen Ende angebracht ist. Die umgekehrte Anordnung erscheint uns zweckdienlicher.

Litteratur: CRUZ (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), STEINACH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), ZIMMERMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), KOLSTER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), FAIRCHILD (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1896).

Azaleïn. Salpetersaures Rosanilin, kantharidenglänzendes, krystallinisches Pulver, in Wasser und Alkohol löslich.

Von LIST in ganz dünner, wässeriger Lösung (0,0001⁰/₀) zur Kernfärbung von Flemmingpräparaten empfohlen. Färbung 10—15 Minuten und Ausziehen in abs. Alkohol.

Litteratur: LIST (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885).



Azarin S, $C_6H_2Cl_2 \begin{cases} OH \\ N:N.C_{10}H_7OH. \\ | \\ SO_3NH_4.H. \end{cases}$ Azofarbstoff (Höchst). Gelbe, in Wasser wenig lösliche Paste, in Schwefelsäure und kochender Natronlauge mit rother Farbe löslich, mit Salzsäure gelber Niederschlag.

Azoblau, ein Oxytetrazofarbstoff (Berlin, Elberfeld). Blauschwarzes, in Wasser mit violetter Farbe lösliches Pulver. Mit Salzsäure violetter Niederschlag, mit Natronlauge rothe Färbung. In Schwefelsäure blaue Lösung, beim Verdünnen violetter Niederschlag.

Von Kuczynski zur Doppelfärbung mit Metanilgelb (siehe dort), von Vinassa zur Färbung pflanzlicher Präparate benutzt.

Litteratur: Vinassa (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891).

Azoflavin, syn. für Azogelb (Ludwigshafen).

Azogelb, syn. Azoflavin, Indischgelb, Helianthin (Höchst). Azofarbstoff. Gelbes, in warmem Wasser lösliches Pulver, die Lösung färbt sich mit Salzsäure braun, mit Natronlauge braun. In Schwefelsäure mit rother Farbe löslich.

Azoviolett, Azofarbstoff (Höchst, Elberfeld). Schwarzblaues, in Wasser mit violetter Farbe lösliches Pulver. Mit Natronlauge rothe, mit Schwefelsäure blaue Lösung.

Von Vinassa zur Färbung pflanzlicher Präparate benutzt.

B.

Bakterienfärbung, allgemeiner Theil, siehe Trockenpräparat.

Baryumbichromat siehe Chromsaure Salze.

Baryumhydroxyd, Barythydrat, Ba $(OH)_2 + 8\ H_2O$, krystallisirt in grossen farblosen Blättern; wird es zur Rothglut erhitzt, so verliert es sein Krystallwasser und es bleibt eine krystallinische Masse zurück: das wasserfreie Baryumhydroxyd. Es löst sich bei 15° zu 5% in Wasser zu einer stark alkalisch reagirenden Flüssigkeit, dem Barytwasser.

Das Barytwasser ist von Fol zum Maceriren von Muskeln, Nerven und Sehnen empfohlen worden. Es wirkt bedeutend rascher als das zu demselben Zwecke empfohlene Kalkwasser.

Fayersztayn setzt dem zur Reduktion von versilberten Präparaten des Nervensystems dienenden Formol zur Beschleunigung des Reduktionsvorganges Barytwasser zu.

Litteratur: Fayersztayn (Neurol. Centr., 1901).

Baryumsulfat, Schwerspath, Ba SO_4, findet sich in ausgedehnten Lagern in der Natur, ist unlöslich in Wasser und verdünnten Säuren, löslich in koncentrirter Schwefelsäure bei 100°. Das künstlich durch Fällung eines löslichen Baryumsalzes mittels verdünnter Schwefelsäure erhaltene Baryumsulfat dient in der Technik unter dem Namen Permanentweiss als Malerfarbe.

Harting benutzt das letztere zur Herstellung einer weissen Injektionsmasse. (Näheres siehe Injektionsmethoden.)

Basen, organische, siehe Alkaloide, pflanzliche.

Basophile Granulationen siehe Blut.

Baumwollblau, 2 B, Syn. für Methylblau (Ludwigshafen). Cox färbt Schnitte von Spinalganglien mit Alaun-Baumwollblau an Stelle von Indoïnblau (siehe dort), da der erstere Farbstoff beständiger ist.

Litteratur: Cox (Anat. Hefte, 31, 1898).

Bayrischblau, DSF und DBF, Syn. für Methylblau (Berlin).

Becherzellen siehe Schleimfärbung.

Beggiatoa. Der Schwefel ist in den Schwefelbakterien in halbweichen Tropfen enthalten und wird (nach dem Abtödten durch Schwefelsäure oder Eintrocknen) gelöst bis auf einen geringen Rest in schwefligsaurem Natron oder Schwefelkohlenstoff.

Litteratur: Winogradsky (Beiträge zur Morpholog. u. Physiol. der Schwefelbakterien, Heft 1, 1888).

Zum Studium ihres Baues (die grösste ist Beggiatoa mirabilis der Kieler Bucht) werden sie fixirt in Flemming oder Merkel, eventuell mikrotomirt und gefärbt mit Hämatoxylin. Im Plasma sind dann 1. zahlreiche rothe »Chromatinkörner« (also kein Kern), 2. Körnchen Kohlenhydrats, das durch Jod bläulich-bräunlich gefärbt wird.

Litteratur: Hinze (Ber. d. bot. Ges., Bd. 19, 1901).

Kultur der Süsswasserform, ausgehend von einem aus dem Sumpf geholten Wasserrhizom (etwa Butomus) in 3—5 Liter Wasser, denen ein paar Gramm Gyps zugesetzt sind.

Litteratur: Winogradsky (l. c.) *Magnus*, Berlin.

Beizen siehe Anilinfarben und Färbung.

Beleuchtungsapparat siehe Mikroskop.

Bengal Rosa, Syn. Rose bengale (Ludwigshafen, Berlin), Tetrajodtetrachlorfluorescin, $C_{20}H_4Cl_4J_4O_5$. Das Natriumsalz ist in Wasser mit rother Farbe leicht löslich. Die alkoholische Lösung fluorescirt. Salzsäure und Zinnchlorür geben rothen Niederschlag.

Benzaldehydgrün, Syn. für Malachitgrün.

Benzin, Petroleumbenzin, Benzinum Petrolei, findet sich im amerikanischen Petroleum und besteht hauptsächlich aus Hexan, C_6H_{14}, und Heptan, C_7H_{16}. Es ist eine farblose, eigenthümlich riechende und leicht entzündliche Flüssigkeit vom spec. Gew. 0,66. Siedepunkt zwischen 60 und 80°. In Wasser ist es unlöslich, in 90%igem Alkohol lösen sich 15—20%, mit Chloroform, Aether, Schwefelkohlenstoff und fetten Oelen mischt es sich in jedem Verhältniss. Jod löst sich in ihm mit rother Farbe.

Benzin ist ähnlich wie Benzol als Intermedium benutzt worden, vor allem aber von Nissl zur Herstellung seines Benzin-Kolophoniums (1 Theil Kolophonium in 10 Theilen Benzin gelöst). (Näheres siehe unter Nervenzellen.)

Benzoaurin, ein Disazofarbstoff, der in den Marken G und 3 G in den Handel kommt (Elberfeld, Berlin). Grau- oder blauschwarzes Pulver, das sich in Wasser oder Alkohol mit violetter Farbe löst. Die Lösung färbt sich mit Natronlauge röthlich, mit Schwefelsäure oder Salzsäure entsteht ein violetter Niederschlag.

Benzoazurin, ein Azofarbstoff, der entsteht durch Kombination von O-Dianisidin und α-Naphtol-α-Monosulfosäure (Berlin, Elberfeld). Blaugraues Pulver, in kaltem Wasser zu circa 2% löslich mit blauer Farbe, in Alkohol schwer mit rother Farbe löslich. In Salzsäure unlöslich, in koncentrirter Schwefelsäure löslich, beim Verdünnen Niederschlag. Mit Natronlauge Rothfärbung, mit Bichromat Braunfärbung. In Borax mit blauer Farbe leicht löslich.

Ein sehr empfehlenswerther, von Zschokke eingeführter Kernfarbstoff für Sublimatpräparate, doch erwies sich nur das aus Elberfeld bezogene Präparat brauchbar. Man färbt ¼—½ Stunde in einer 1‰igen Lösung. Auswaschen in Wasser und gleich in 95%igen Alkohol, da schwacher Alkohol den Farbstoff extrahirt. Es färben sich Kern und Protoplasma blauviolett, ähnlich wie in Hämatoxylin.

Litteratur: Zschokke (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888).

Benzol, C_6H_6, ist die Muttersubstanz aller der sogenannten »Aromatischen Reihe« angehörigen Substanzen; sie alle sind dadurch charakte-

risirt, dass sie einen »Benzolkern« enthalten, für den KEKULÉ im Jahre 1865 das Symbol ⬡ eingeführt hat.

Benzol bildet einen beträchtlichen Theil des Steinkohlentheeröls. Es wird aus der bei 80—85° siedenden Fraktion durch Ausfrieren gewonnen.

Reines Benzol ist eine ätherisch riechende Flüssigkeit vom Siedepunkt 80.5°. Es erstarrt bei 0° zu einer blätterig-krystallinischen Masse. An der Luft brennt Benzol mit stark russender, leuchtender Flamme. Es mischt sich nicht mit Wasser, aber mit den meisten organischen Solventien; es löst viele feste organische Körper, besonders leicht Harze, Oele und Fette und nimmt auch Schwefel, Phosphor und Jod reichlich auf.

Reines Benzol erhält man durch Glühen von Natronkalk mit Benzoësäure. Das Handelsbenzol ist häufig durch Thiophen ($C_4 H_4 S$) verunreinigt.

Einen Gehalt an letzterem erkennt man: 1. Durch Mengen mit etwas koncentrirter Schwefelsäure und einem Körnchen Isatin; dabei färbt sich thiophenhaltiges Benzol intensiv blau (Indopheninreaktion). 2. Ferner kann man einen Thiophengehalt durch Erhitzen mit metallischem Kalium entdecken. An dieses giebt Thiophen seinen Schwefel ab, und das gebildete Schwefelkalium kann durch die Violettfärbung erkannt werden, die es einer kalten Nitroprussidnatriumlösung ertheilt. *Neuberg*, Berlin.

Da das Benzol ein gutes Lösungsmittel für Paraffin ist — es vermag nach den Angaben von APÁTHY bei 20° circa 8% Paraffin von 57—58° Schmelzpunkt zu lösen — so ist es von BRASS als Intermedium bei der Paraffineinbettung vorgeschlagen und von MINOT, LEE und MAYER auch warm für diesen Zweck empfohlen worden. Es hat vor dem Xylol und Chloroform den Vorzug, dass es wesentlich billiger ist und vor anderen Intermedien den, dass es ohne Rückstand verdunstet und ein Verschmieren des Paraffins dadurch ausgeschlossen ist.

Es kann auch die Stelle des Xylols als Lösungsmittel für Kanadabalsam übernehmen und bewirkt dabei infolge seines hohen Brechungsindex (1,501) eine stärkere Aufhellung des Präparates.

Da das Benzol ein gutes Lösungsmittel für Fette und fettartige Körper ist, so ist es auch in Verbindung mit Alkohol zum Entfernen des Myelins aus markhaltigen Nervenfasern benutzt worden (vide Myelin).

Benzopurpurin B, ein Azofarbstoff, der durch Kombination von Tetrazo O Ditolyl mit β-Naphtylaminsulfosäure erhalten wird (Elberfeld). Rothes, in Wasser ziemlich leicht lösliches Pulver, in Alkohol schwer löslich. Zusatz von Kalilauge verändert die Lösung nicht, Zusatz von Salz- oder Essigsäure färbt sie blau.

Aehnlich wie das Benzoazurin ist auch das Benzopurpurin ein brauchbares Kernfärbungsmittel und wie jenes anzuwenden. Die einzelnen Handelsmarken scheinen starke Verschiedenheiten zu zeigen.

Von ZSCHOKKE ist es als Plasmafarbstoff in Verbindung mit Hämatoxylin empfohlen worden und soll bedeutend mehr als Eosin leisten.

Von MARTIN ist es in dünner, wässeriger Lösung als Kernfarbstoff sehr gerühmt worden. Färbung 1/2—4 Stunden und Differenziren in Salzsäurealkohol. Dem enthusiastischen Lob der beiden Autoren können wir uns nicht anschliessen, unser Präparat zeigte jedenfalls keinen Vorzug vor Hämatoxylin und war dem Benzoazurin unterlegen.

BIRCH-HIRSCHFELD benutzt das Benzopurpurin zur Färbung lebender Sporen von Typhusbacillen.

Litteratur: ZSCHOKKE (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1888), MARTIN (Deutsch. Zeit. Thiermed, Bd. 14, 1889), BIRCH-HIRSCHFELD (Zeit. Hyg., Bd. 7, 1887).

Benzoylgrün, syn. Malachitgrün, Victoriagrün, Bittermandelölgrün, Neugrün, Solidgrün, das Zinkdoppelsalz des Tetramethyldi-p-amidotriphenyl-

carbinol, $3 (C_{23} H_{24} N_2) + 2 Zn Cl_2 + 2 H_2 O$. Es bildet sich bei der Oxydation von Tetramethyldiamidotriphenylmethan mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure. Glänzende, grüne Blättchen, die in Wasser und Alkohol leicht löslich sind. Es zeichnet sich vor dem Methylgrün durch eine grössere Beständigkeit aus.

Von RICHARDSON 1881 in die botanische Mikrotechnik eingeführt, wurde es später von CAMERANO zur Färbung der Fibrillen in der Cuticula der Nemathelminthen empfohlen. SCHÜRMAYER hat es zur Färbung von Infusorien intra vitam benutzt und soll es hier die lebenden Organismen färben. KÜHNE rühmt es in koncentrirter Lösung in Anilin zum Differenziren von Fuchsin-, Methylenblau- und Krystallviolettpräparaten.

Beobachtungsflüssigkeiten, indifferente. Wenn man kleine Theile von frischem überlebendem Gewebe unter dem Deckglas untersuchen will, wird man meistens genöthigt sein, eine indifferente, das Objekt nicht schädigende Flüssigkeit zuzusetzen. Die für diesen Zweck idealste Flüssigkeit wird natürlich die die Zellen auch intra vitam umspülende Lymph-, respektive Blutflüssigkeit abgeben und man wird, wo es möglich ist, z. B. in dem Blutserum des betreffenden Thieres untersuchen.

Ist solches nicht zur Hand, so kann man sich einer anderen normalen Körperhöhlenflüssigkeit bedienen, z. B. für warmblütige Thiere Fruchtwasser oder Kammerwasser, letzteres auch für kaltblütige Thiere verwenden.

Bei wirbellosen Thieren wird man sich der Leibeshöhlenflüssigkeit, bei marinen Wirbellosen einfach des Seewassers bedienen.

Man hat nun vielfach versucht, diese natürlichen Beobachtungsmedien durch künstliche zu ersetzen, und zwar dadurch, dass man durch Zusatz indifferenter Salze und kolloider Substanzen die Beobachtungsflüssigkeit den Gewebssäften isotonisch und möglichst ähnlich in der Zusammensetzung macht. Von diesen Zusätzen spielt das Chlornatrium die grösste Rolle, daneben finden sich noch Chlorkalium, Chlorcalcium, Natriumsulfat, Manganchlorid, Hühnereiweiss, Albumosen etc.

Die einfachste und am meisten verwendete Lösung ist die sogenannte physiologische Kochsalzlösung, auch als Normalsalzwasser bezeichnet. Dieselbe soll für Säugethiere einen Gehalt von 0,9—1%, für Amphibien etwas weniger, 0,8%, an Kochsalz besitzen, für Seefische dagegen wieder mehr, 1,5—2%. LOCKE setzt dem Normalsalzwasser ausserdem noch 0,01% Chlorkalium und 0,02% Chlorcalcium zu.

Um diese indifferente Flüssigkeit dem Blutserum noch ähnlicher zu machen, kann man ihm Eiweisskörper zusetzen; so nimmt FREY auf 100 Ccm. ungefähr 10—12 Ccm. Hühnereiweiss. TORNIER giebt auf 100 Theile 0,6%iger Kochsalzlösung 20 Theile einer 2%igen Lösung von LIEBIG's Fleischextrakt und eine Spur von Pepton. Dieses künstliche Blutserum hat den Vortheil, dass man es sterilisiren kann durch Hitze. Rothe Blutkörperchen vom Hund sollen sich 10 Tage darin unverändert halten.

PICTET hat als indifferente Zusatzflüssigkeit für Gewebe von Seethieren eine 5—10%ige Lösung von Chlormangan, für Landthiere eine solche von 1—3%, beide mit einem geringen Zusatz von Dahlialösung empfohlen.

Litteratur: LOCKE (Bost. med. surg. Journ. 1896), TORNIER (Das Knochenmark, Inaug.-Diss., Breslau, 1890), PICTET (Mitth. Zool. St. Neapel, Bd. 10, 1891).

Bergamottöl ist der Saft der Schalen von Citrus Bergamia Risso, dünnflüssiges, grünes Oel von angenehmem Geruch und bitterem Geschmack. Es siedet gegen 183°, specifisches Gewicht 0,856, Brechungsindex 1,464. In frischem Zustand reagirt es neutral, bei längerem Stehen schwach sauer. Mit 80%igem Alkohol soll sich gutes Bergamottöl klar mischen. Es soll möglichst vor Licht geschützt aufbewahrt werden.

Es ist nicht einheitlicher Natur und besteht im wesentlichen aus Substanzen der Terpenreihe. Diesen »ungesättigten Verbindungen« verdankt es sein grosses Absorptionsvermögen für Chlorwasserstoffgas. Isolirt sind aus dem Bergamottöl besonders der olefinische Terpenalkohol l-Linalool. ($C_{10}H_{18}O$) = $(CH_3)_2.C = CH.CH_2.CH_2.C(CH_3)(OH).CH:CH_2$, und das Bergapten, welches wahrscheinlich als ein Cumarinderivat aufzufassen ist.

Neuberg, Berlin.

Von Stieda in die Mikrotechnik eingeführt, hat es die werthvolle Eigenschaft, dass es Celloidin gar nicht angreift, und wird deshalb in der Celloidintechnik vielfach verwendet, besonders zum Glätten und Ueberführen von Celloidinschnitten aus 90⁰/₀igem Alkohol in Balsam.

Da es osmirte Fette in ziemlich erheblichem Grade löst, so kann man Präparate, die in Flemming oder Hermann fixirt sind, durch Behandlung mit Bergamottöl als Intermedium zur Paraffineinbettung bleichen. Es ist überhaupt als schonendes Intermedium für Paraffineinbettung von vielen Seiten empfohlen worden, so von Heidenhain und Rabl für thierische, von Rosen für pflanzliche Objekte. Doch ist der hohe Preis (circa 20 M. pro Kilogramm) wohl etwas hinderlich.

Litteratur: Stieda (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), Heidenhain (Festschr. Kölliker 1892), Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Rosen (Jahr. Schles. Ges. vat. Cult., 1893).

Berliner Blau. In Bezug auf die Darstellung und Verwendung als Injektionsfarbe siehe Injektion. Im übrigen vergleiche man vor allem die Artikel Eisen, Sehorgan (Cornea) und Zellmembranen, pflanzliche.

Bernsteinlack. Von Behrens als einer der am besten haftenden Lacke empfohlen. Die Gewichtsverhältnisse sind 10 Theile Bernstein, 20 bis 30 Theile Oelfirniss, zu dessen Darstellung meist Leinöl genommen wird, 25—30 Theile Terpentinöl. Der gewöhnliche Bernsteinlack ist dunkelolivenbraun und undurchsichtig. Behrens erwähnt einen Bernsteinlack von der Firma Ed. Pfannenschmidt (Danzig) rühmlichst für technische Zwecke.

Litteratur: Behrens (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), Amann (ibid., Bd. 13, 1896).

Mosse, Berlin.

Bertholletia excelsa siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle.

Betaïn siehe Alkaloide, pflanzliche.

Betäuben siehe Narkose.

Beweglicher Objekttisch siehe Mikroskop.

Bichromate siehe Chromsaure Salze.

Biebricher Scharlach. Syn. Scharlach 3 B, Ponceaux 3 R, das Natriumsalz des Amidoazobenzoldisulfosäure-azo-β-naphtols, $(SO_3Na)C_6H_4.N:N.C_6H_3(SO_3Na).N:N.(C_{10}H_6)OH$ (Kalle). Ein rother Azofarbstoff. löslich in Wasser und Alkohol, giebt mit Natronlauge braune Färbung; in koncentrirter Schwefelsäure mit grüner Farbe löslich. Färbt Wolle im Alaunbad, Seide bei Ansäuerung mit Schwefelsäure.

Ziemlich ungiftig. Findet als Plasmafarbstoff Verwendung, doch wird die Färbung durch Wasser und Alkohol leicht wieder ausgezogen.

Von Germano in wässeriger oder alkoholischer Lösung zur Färbung von Hoden, auch zur Stückfärbung empfohlen.

Paladino benutzt eine 2⁰/₀ige wässerige Lösung und mischt sie im Verhältniss von 1 : 2 mit Alaunhämatoxylin. Nach der Färbung kommen die Präparate für einige Stunden in 3⁰/₀iges Alaunwasser.

Litteratur: Germano (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 9, 1892), Paladino (Rend. Acc. Sc. fis. mat. Napoli, Bd. 1, 1895).

Bierwürze als Nährboden für Hefe und andere Pilze wird hergestellt, indem man frische Bierwürze etwa 4 Stunden bis zur Syrupdicke einkocht und zu jedesmaligem Gebrauch mit sterilisirtem Wasser entsprechend verdünnt. Oder man kocht Bierhefe in einem Kolben auf, der mit einer doppelten Lage Fliesspapier überbunden ist, sie hält sich so jahrelang unverändert, ist aber erst nach einem Monat völlig klar. (Nach STRASBURGER, Gr. bot. Pr., 3 Aufl., 1897, pag. 423 u. 445). Es wird auch empfohlen, das gemahlene Malz erst mit Wasser versetzt 250 Grm. auf 1 Liter bei 65° 1 Stunde zu halten, durch ein Tuch zu filtriren und dann 2—3 Stunden gelinde zu kochen, bis die Flüssigkeit auch kalt klar, dann wird filtrirt und sterilisirt. (BEHRENS, Tab. z. G. m. A., pag. 141.) *Magnus*, Berlin.

Bindegewebe siehe Kollagenes Gewebe.

Binoculäres Mikroskop siehe Mikroskop.

Biondi-R. Heidenhain'sche Farblösung. Die BIONDI-R. HEIDENHAIN'sche Farblösung ist eine Mischung, welche zwei saure Farbstoffe, Orange G und Säurefuchsin (beziehungsweise Säurerubin), neben einem basischen, Methylgrün, enthält.

Eine derartige Mischung (fälschlich als »Triacid«lösung bezeichnet: siehe Blut) ist zur Färbung von Bluttrockenpräparaten zuerst von EHRLICH empfohlen worden.

EHRLICH mengt 125 Ccm. der gesättigten wässerigen Orangelösung mit einer ebenfalls gesättigten, 20% Alkohol enthaltenden Säurefuchsinlösung, fügt 75 Ccm. absoluten Alkohol und dann allmählich unter Umschütteln 125 Ccm. einer gesättigten wässerigen Methylgrünlösung hinzu. Die Lösung ist unmittelbar nach ihrer Bereitung nicht verwendbar, da sich noch innerhalb der ersten Tage Niederschläge bilden, die sich auf den Präparaten fixiren und deren Untersuchung erschweren, respektive unmöglich machen. Man ist daher gezwungen, die Lösung längere Zeit* stehen zu lassen; es scheidet sich dann der gebildete Niederschlag zu einem Theil am Boden oder an der Wand der Gefässe ab, während er zum anderen Theil die Oberfläche der Flüssigkeit als eigenthümlich glänzende Haut überzieht. Filtriren nützt hier wenig, da dasselbe einerseits die Zusammensetzung der Farbe ändert und andrerseits das einmal erlangte Gleichgewicht der Lösung stört und so neue Niederschläge hervorbringt. Folgender kleine Kunstgriff führt dagegen zu einer klaren, zum Färben geeigneten Flüssigkeit. Man führt eine Pipette in die Mitte der Flüssigkeit und entnimmt dann so beliebige niederschlagsfreie Quantitäten. Pipette und Färbegefässe müssen absolut trocken sein, da Anwesenheit von Wasser die homogene Lösung wiederum trübt.

REINBACH benutzte ein nach EHRLICH's neuester, privatim gemachter Angabe modificirtes Gemisch, welches folgendermassen zusammengesetzt war:

Gesättigte wässerige Lösung von Orange G	120	Theile
" " " " Säurefuchsin	80	"
" " " " Methylgrün	100	"
Aqua destillata	300	"
Alkohol absolutus	180	"
Glycerin	50	"

Die zur Mischung verwandten wässerigen Lösungen müssen unbedingt koncentrirt sein, die Mischung selbst darf nie umgeschüttelt werden, der jedesmal nöthige Bedarf muss vorsichtig mittels einer Pipette entnommen werden.

Die (vorher erhitzten) Bluttrockenpräparate werden der Einwirkung dieses Farbgemisches 5—10 Minuten lang ausgesetzt, dann von dem überschüssigen Farbstoff durch Abspülen mit Wasser befreit, mit Fliesspapier getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Für Schnittfärbung wurde die EHRLICH'sche Mischung zuerst von BABES angewandt; dann aber besonders von BIONDI-R. HEIDENHAIN, welche die drei Farbstoffe in anderen Verhältnissen als EHRLICH zusammenmischten: BIONDI-R. HEIDENHAIN'sche Farblösung. Die von ihnen gegebenen Färbungsvorschriften sind von M. HEIDENHAIN und von R. KRAUSE vervollständigt worden.

* ISRAEL fügt in Klammern hinzu: einige Monate.

Vorbehandlung des Materials. Für die Schnittfärbung mit der von Biondi-R. Heidenhain modificirten Ehrlich'schen Lösung darf unter keinen Umständen ausser Acht gelassen werden, dass nur in ganz bestimmter Weise fixirtes Material zur Verwendung kommen kann.

Das Material, von welchem die zu färbenden Schnitte stammen, muss in Sublimat fixirt sein.

Zusatz von Essigsäure beeinträchtigt die Färbung nicht. Einigermassen gute Resultate liefert auch noch Fixation in Sublimat-Pikrinsäure, vorausgesetzt, dass die letztere aus den Präparaten völlig entfernt ist Zenker'sche Flüssigkeit und Alkohol.

Ganz ungeeignet für die Biondifärbung ist Material aus Osmiumgemischen, Platinchlorid und Salpetersäure (R. Krause 97).

Schnittdicke. Was die Schnittdicke anlangt, so soll sie im allgemeinen 10 μ nicht übersteigen. Schnitte von 10 μ Dicke sind aber schon gut verwendbar. Die Angabe von Lee, dass man nur ganz dünne Schnitte (solche von 3—5 μ Dicke) wirklich gut färben könne, ist jedenfalls irrthümlich.

Bereitung der Stammlösung. Biondi-R. Heidenhain stellen sich von den drei Farbstoffen, Orange G, Fuchsin S und Methylgrün, kaltgesättigte wässerige Lösungen her, welche sie in bestimmtem Verhältniss mit einander mischen. Die Mischung (Stammlösung) wird zur Färbung mit Wasser verdünnt.

Um gesättigte Lösungen zu erhalten, muss man die Farbstoffe mehrere Tage mit Wasser stehen lassen und häufig umschütteln. Dann filtrirt man und mischt zusammen (nach Versuchen von Biondi) 100 Ccm. Orange und 20 Ccm. Säurefuchsin und setzt unter stetem Umrühren 50 Ccm. Methylgrün hinzu.

Zu dieser Vorschrift giebt R. Krause (93 u. 97) folgende Ergänzungen. Zunächst betont er, wie auch M. Heidenhain, dass die zur Verwendung kommenden Farbstoffe unbedingt chemisch rein sein müssen. Es ist durchaus nothwendig, dass sie in letzter Linie von der Berliner Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation stammen; am besten sind sie direkt daher zu beziehen.

Man verwende kalt gesättigte wässerige Lösungen, die mindestens ein paar Tage unter öfterem Umschütteln über dem Farbstoff gestanden haben, welcher in grösserer Menge den Boden des Gefässes bedecken soll. Es lösen sich in 100 Ccm. Wasser ungefähr je 20 Grm. Rubin S*, 8 Grm. Orange und 8 Grm. Methylgrün.

Folgende Zusammensetzung der Stammlösung hat R. Krause die besten Resultate geliefert. 4 Ccm. der Rubinlösung werden mit 7 Ccm. der Orangelösung gemischt und 8 Ccm. der Methylgrünlösung hinzugegeben. Verfährt man so, dann entsteht kein Niederschlag, welcher sonst fast unvermeidlich ist.

R. Krause warnt davor, fertig bezogene Lösungen oder trockene Farbstoffgemische zu verwenden.

Herstellung der definitiven Farblösung. Die Stammlösung wird zur Färbung im Verhältniss 1 : 60—100 (nach R. Krause 1 : 50—100) mit Wasser verdünnt, je nachdem man eine mehr oder weniger intensive Färbung wünscht.

Bei dieser Verdünnung muss sie durch Essigsäurezusatz deutlich stärker roth werden; auf Fliesspapier muss sie einen Fleck machen, der in der Mitte blaugrün, nach den Rändern orange erscheint. Wird diese orange Zone von einer breiteren rothen umgeben, so enthält sie zu viel Fuchsin.

In der verdünnten Flüssigkeit bleiben die Präparate 6—24 Stunden.

Nach der Färbung ist ein eigentliches Extraktionsverfahren nicht nöthig Nur der überschüssige, in den Schnitten imbibirte Farbstoff wird durch

* R. Krause (ebenso M. Heidenhain) verwenden statt Fuchsin S das Rubin S.

kurze Einwirkung von destillirtem Wasser oder Alkohol herausgespült; darauf werden die Schnitte in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Anwendung stark verdünnter Säure beim Färbeverfahren. Schnitte, die in der oben beschriebenen Weise gefärbt werden, bleichen, wie sich gezeigt hat, leicht aus. Um diesem Uebelstand abzuhelfen und ferner, um eine grössere Intensität der Tinktion zu erzielen, empfiehlt es sich, bei dem Färbeverfahren stark verdünnte Säure in Anwendung zu bringen.

M. Heidenhain stellt die Schnitte vor der Färbung in Essigsäure 1 : 1000 für circa 2 Stunden auf und säuert ferner die verdünnte Farblösung mit Essigsäure 1 : 500 vorsichtig an, bis der Farbenton in ein kräftiges Karmoisinroth umschlägt. Die richtigen Säuregrade der Farblösung zu treffen, ist nach M. Heidenhain einigermassen umständlich. Die Vorschrift, welche er dafür giebt, ist folgende:

Man richte zwei gleich grosse Bechergläser mit destillirtem Wasser her und bringe in beide einige Tropfen der verdünnten Farblösung, derart. dass die Färbungsintensität in beiden Bechergläsern die gleiche ist. Nun zeigt sich, dass die Flüssigkeiten ausser dem röthlichen Farbenton des Rubins einen Stich ins Gelbe, von dem Orange herrührend, erkennen lassen, während das Methylgrün sich durch eine grauliche Nuance geltend macht. Darauf setze man dem einen Becherglase von einer stark verdünnten Essigsäure (1 : 500) tropfenweise unter stetem Umrühren so viel zu, bis der Farbenton in ein kräftiges Karmoisinroth umschlägt. Hierbei verschwindet der vorher vorhandene Stich ins Gelbe und der von dem Methylgrün sich herschreibende grauliche Ton der Flüssigkeit tritt zurück. Diese beiden Bechergläser dienen als Testobjekte für den Grad der Acidität, welchen man der zum Gebrauch fertigzustellenden Lösung geben muss, um differente Färbungen zu erzielen. Das aus der Stammlösung durch Verdünnung gewonnene Quantum wird mit der gleichen schwachen Essigsäure (1 : 500), die schon vorher benutzt wurde, successive angesäuert und dabei kräftig umgeschüttelt. Von Zeit zu Zeit entnimmt man dem Farbstoffgemisch einige Tropfen, welche wiederum in ein Becherglas mit destillirtem Wasser hineingegeben werden. Man vergleicht mit den beiden ersten Bechergläsern: Wenn der schöne karmoisinrothe Farbenton erreicht ist, den man bei der Ansäuerung des einen Probeglases erhielt, dann ist die Lösung gebrauchsfertig und eine weitere Ansäuerung unterbleibt vorläufig. Fallen die Präparate dann noch nicht ganz nach Wunsch aus, so müssen noch geringe Mengen Säure zugesetzt werden*.

In der Farblösung bleiben die Schnitte circa 12—18 Stunden; sie werden dann der Reihe nach kurz mit destillirtem oder spurweise angesäuertem Wasser, absolutem Alkohol und Xylol abgespült und in Kanadabalsam aufgestellt.

R. Heidenhain (nach Mittheilung an Israel) empfiehlt, 100 Ccm. der verdünnten Farblösung mit 15—24 Tropfen Essigsäure 1 : 500 anzusäuern**;

* Um die Farblösung auf dem richtigen Säuregrad zu erhalten, soll man (M. Heidenhain 94) die nach obiger Vorschrift regulirten Lösungen nicht filtern, da während des Filterns der Grad der Acidität abnimmt. Ferner müssen Lösungen, die längere Zeit gestanden haben, immer wieder von neuem durch Zusatz geringer Mengen Säure aufgefrischt werden, und zwar aus dem Grunde, weil alle wässerigen Lösungen Spuren von Glas ablösen. Hierbei gehen alkalisch reagirende Silikate in die Flüssigkeit über, welche den Aciditätsgrad herabmindern. Rationell wäre mithin einzig und allein, die Lösungen in (Metall- oder) Guttaperchagefässen aufzubewahren.

** Die Empfehlung wird gegeben für eine Farblösung, welche aus einer von Grübler (Leipzig) zu beziehenden pulverförmigen Mischung in folgender Weise hergestellt wird. Aus diesem Pulver bereitet man sich eine 12%ige wässerige Stammlösung, welche, weil das Pulver sich langsam löst, erst nach einigen Tagen gebrauchsfähig wird.

über Aufstellung der noch ungefärbten Schnitte oder Abspülung der gefärbten in saurem Wasser wird nichts angegeben.

R. KRAUSE (1893) scheint auf eine Ansäuerung der Farblösung zu verzichten, erklärt es dagegen ebenso wie M. HEIDENHAIN für vortheilhaft, die Schnitte vor der Färbung 1—2 Stunden in verdünnter Essigsäure (1 : 500, KRAUSE) verweilen zu lassen. Auch säuert man nach ihm zweckmässig den zum Entwässern dienenden Alkohol an, indem man zu 50 Ccm. Alkohol 1—2 Tropfen koncentrirter Essigsäure hinzusetzt.

Färbung mit der Stammlösung. Während alle übrigen Forscher die »Stammlösung« nach dem Vorgang von BIONDI-R. HEIDENHAIN zur Färbung mit Wasser verdünnen, tingirt DRÜNER die auf dem Objektträger aufgeklebten Schnitte 10 Minuten lang mit der unverdünnten Lösung, spült sie dann ganz flüchtig (2 Sekunden) mit Brunnenwasser ab, bringt sie für 1 Minute in absoluten Alkohol, welcher $^1/_{10}$% Salzsäure enthält, und darauf in reinen absoluten Alkohol.

Färbungsergebnisse. Die Kerne, beziehungsweise ihre Chromatingerüste, färben sich bläulich oder grünlich, die Nukleolen der Kerne intensiv roth. Die Strukturen des Cytoplasmas werden roth in verschiedenen Nuancen. Intensiv roth tingiren sich die acidophilen (eosinophilen oder α-) Granula der Leukocyten. Die rothen Blutzellen werden orangegelb bis rubinroth.

Ueber den Werth der Methode sind merkwürdigerweise abweichende Ansichten laut geworden. R. KRAUSE, dem ich mich völlig anschliesse, erklärt, dass die Methode vielfache Verwendung gestattet und dabei leicht und sicher zu handhaben ist. Demgegenüber behauptet LEE: »Das EHRLICH-BIONDI'sche Gemisch hat bei weitem nicht die Eigenschaften einer normalen Färblösung für Schnitte und ist gänzlich ungeeignet für gewöhnliches Studium.« Ich möchte glauben, dass die Misserfolge, auf welchen dieses Urtheil beruht, ihren Grund darin haben, dass LEE versucht hat, ungeeignet fixirtes Material zu färben. L. c. pag. 193 giebt er an, dass das Färbegemisch auch für Objekte aus Chromosmiumgemischen brauchbar sei, was durchaus nicht zutreffend ist.

Schliesslich sei noch bemerkt, dass M. HEIDENHAIN (94) auch die EHRLICH'sche Originallösung (»Triacid«lösung), welche er in gleicher Weise wie die BIONDI-R. HEIDENHAIN'sche Mischung behandelte, zur Schnittfärbung verwandt und damit ausgezeichnete Resultate erhalten hat.

Litteratur: EHRLICH (Charité Ann., Bd. 9, 1882), ISRAEL (Practicum der pathologischen Histologie, II. Aufl., Berlin 1898), REINBACH (Arch. klin. Chir., Bd. 46, 1893), BABES (VIRCH. Arch., Bd. 105, 1886), R. HEIDENHAIN (PFLÜGER's Arch., Bd. 43, Suppl. 1888), M. HEIDENHAIN (Festschr. KÖLLIKER, 1892), KRAUSE (Arch. mikr. Anat., Bd. 42 u. 49, 1893 und 97), LEE (in LEE u. MAYER, Grundzüge etc.), M. HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1884), DRÜNER (Jena. Zeit. Natur., Bd. 29, 1894). *Meves*, Kiel.

Bismarckbraun, syn. Phenylenbraun, Manchesterbraun, Vesuvin, ein Azofarbstoff, das salzsaure Salz des Triamidoazobenzols, $(C_6 H_4 . N H_2) . N : N . C_6 H_3 (N H_2)_2 . 2 H Cl$ (Berlin, Elberfeld). Es entsteht beim Zusammenbringen kalter, verdünnter, neutraler Lösungen von salzsaurem m-Phenylendiamin mit salpetrigsaurem Natrium und Behandeln des Niederschlages mit Salzsäure. Gelbbraune Blättchen, welche in kaltem Wasser schwer, leichter in kochendem Wasser, leicht in Alkohol oder Aether löslich sind. Fixirt sich auf Wolle und Seide ohne Beize.

Das Bismarckbraun ist von WEIGERT in die Mikrotechnik eingeführt worden. Er benutzt entweder wässerige oder schwach alkoholische Lösungen.

Von dieser Stammlösung wird 1 Ccm. zu 30 Ccm. Wasser hinzugesetzt und noch 3 Ccm. einer $^1/_2$%igen wässerigen Säurefuchsinlösung hinzugefügt, weil letztere Farbe in dem käuflichen Pulver nicht ausreichend ist.

Die Lösung wird durch 0,2—0,3 Ccm. (5—6 Tropfen) einer sehr verdünnten Essigsäure (1 Eisessig: 500 Wasser) ganz leicht angesäuert.

Der Farbstoff wird durch Kochen gelöst und nach dem Erkalten filtrirt. Färbung wenige Minuten und Auswaschen in starkem Alkohol. Ein sehr guter Kernfarbstoff, der auch andere Elemente, wie Schleim, Knorpel, Bakterien etc. färbt. Vor allem bildet er ein unschätzbares Mittel zur Knorpelfärbung für embryologische Zwecke. Empfehlenswerth dabei ist es, mit Boraxkarmin durchgefärbtes Material zu benutzen. Färbung nur einige Minuten in der obigen Lösung und Differenziren in starkem Alkohol, bis nur noch der Knorpel intensiv braun gefärbt erscheint.

Bismarckbraun ist ein gutes Schleimfärbungsmittel (siehe dort). Auch zur Färbung lebender Organismen und Gewebe ist es wegen seiner geringen Giftigkeit hervorragend geeignet. Brandt benutzt zu letzterem Zweck Lösungen von 0,3%, ebenso Martinotti. Der letztere empfiehlt dann zur Fixation 0,2%ige Chromsäure und Färbung mit Safranin. Alkohol darf aber nicht mehr darnach angewandt werden. Galeotti will mit Bismarckbraun, ähnlich wie mit Methylenblau vitale Nervenfärbung erzielt haben. (Vergleiche auch Färbung, vitale.)

Voigt färbt den Darm von Schweineembryonen nach Zenker'scher Fixation zuerst in Böhmer'schem Hämatoxylin, dann 1 Stunde lang in 3%igem Bismarckbraun in gleichen Theilen Wasser und Glycerin, Ausziehen in Salzsäurealkohol und rasches Entwässern.

Nösske benutzt eine Doppelfärbung von Bismarckbraun und Bleu de Lyon zur Darstellung eosinophiler Granulationen. Fixation 12—24 Stunden in 4%igem Formol. Die Schnitte werden durch Erwärmen über der Flamme, bis reichlich Dampfbildung eintritt, in einer Farblösung gefärbt, die durch Vermischen von 30 Theilen der folgenden Stammlösung I mit 5 Theilen der Stammlösung II und Zufügen von 25 Theilen Alkohol und 40 Theilen Wasser erhalten wird. Stammlösung I: 20 Theile 1%iger wässeriger Lösung von Bleu de Lyon werden mit 1 Tropfen 15%iger Kalilauge versetzt, 5 Minuten gekocht und mit 20 Theilen Alkohol verdünnt. Stammlösung II: Die gleiche Lösung mit Bismarckbraun hergestellt. Nach der Färbung werden die Schnitte in Salzsäurealkohol abgespült und dann vorsichtig mit einem Gemisch von gleichen Theilen Anilin, Alkohol und Wasser behandelt, bis sie leicht braun erscheinen, dann Entwässern in Alkohol.

List empfiehlt Doppelfärbung mit Methylgrün: Färbung mehrere Minuten in Weigert'scher Lösung, Auswaschen in Alkohol, Uebertragen in $^1/_2$%ige wässerige Methylgrünlösung, bis die Schnitte dunkelgrün sind, Auswaschen in Alkohol. Hauptsächlich für Drüsen geeignet. Statt Methylgrün kann man auch in gleicher Weise Anilingrün verwenden.

Nach Unna kann man sich das Bismarckbraun selbst bereiten, wenn man zu einer wässerigen Lösung von m-Phenylendiamin 1 Tropfen 5%ige Lösung von Natriumnitrit setzt.

Litteratur: Weigert (Arch. mikr. Anat., Bd. 15, 1878), Brandt (Biol. Cent., Bd. 2, 1885), Martinotti (Zeit. wiss. mikr., Bd. 5, 1888), Galeotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Voigt (Anat. Hefte, 38, 1899), Nösske (Deutsche Zeit. Chir., Bd. 55, 1900), List (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 6, 1887).

Bittermandelwasser, Aqua amygdalarum amarum der Pharmakopoe, ist eine farblose, meist ganz klare, neutrale oder schwach saure Flüssigkeit von angenehmem Geruch, die ihre Wirksamkeit der Anwesenheit von Benzaldehyd-Cyanwasserstoff verdankt, welcher sich durch Spaltung des in den bitteren Mandeln sich findenden Amygdalins bildet.

In der mikroskopischen Technik ist das Bittermandelwasser von Remak zum Narkotisiren von Froschlarven empfohlen worden.

Biuretreaktion siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle.

Blätter, Durchsichtigmachen der, siehe Aufhellung pflanzlicher Gewebe.

Blauholz siehe Hämatoxylin.

Blausäure, Cyanwasserstoff, HCN, entsteht als Spaltungsprodukt des in den Samen und Blättern, vieler Pflanzen, besonders Pomaceen und Pruneen, enthaltenen Amygdalins. Künstlich wird sie durch Destillation von Cyankalium mit einer Mineralsäure bereitet; sie stellt eine farblose, bei 26,5° siedende Flüssigkeit von 0,6969 spec. Gew. dar. Sie ist eines der heftigsten und momentan wirkenden Gifte.

Die officinelle Blausäure ist eine 2%ige Blausäurelösung in Alkohol, die durch Destillation von Ferrocyankalium mit verdünnter Schwefelsäure erhalten wird.

Man kann diese verdünnte Blausäure, subkutan angewandt, zum momentanen Tödten grösserer Thiere, wie Hunde und Katzen benutzen, wenn es darauf ankommt, äussere Verletzungen zu vermeiden.

Blauschwarz B, ein schwarzer Azofarbstoff der Badischen Anilin- und Sodafabrik, der sich durch grosse Säurebeständigkeit und Lichtechtheit auszeichnet. Färbt Wolle in saurem Bade.

Bleichen siehe Pigment.

Bleiacetat, neutrales essigsaures Blei, Plumbum aceticum, Bleizucker, $(C_2H_3O_2)_2Pb + 3H_2O$, wird durch Lösen von Bleioxyd in 50%iger Essigsäure erhalten. Tafelförmige oder nadelförmige, monokline Krystalle, die an der Luft verwittern und sich zu circa 40% in Wasser, zu 3—4% in 90%igem Alkohol und nur sehr wenig in Aether lösen. Die wässerige Lösung trübt sich leicht durch Ausscheidung von Bleikarbonat.

Das Bleiacetat wird in der technischen Färberei vielfach verwandt, um roth oder gelb zu färben, indem man durch Zusatz von Kaliumbichromat Bleichromat ausfällt. Aehnlich geht man auch in der Mikrotechnik zur Erzielung gelber Injektionsmassen vor. (Siehe Injektionstechnik, vergleiche auch Sehorgan, Hornhaut.)

Zur Fixation ist eine 10%ige Lösung von Bleiacetat von KOTLAREWSKI für Nervenzellen empfohlen worden. Auch zur Fixation pflanzlichen Schleims hat man dasselbe benützt.

Litteratur: KOTLAREWSKI (Mit. natur. Ges. Bern 1887).

Bleiformiat, $(HCO.O)_2Pb$. Glänzende Nadeln, welche in Wasser zu circa 1,5% löslich, in Alkohol unlöslich sind. Bildet mit Bleiacetat Doppelsalze von der Formel $(C_2H_3O_2)_2Pb + \left.\begin{matrix}C_2H_3O_2\\CHO_2\end{matrix}\right\}Pb + 2H_2O$.

KRONTHAL stellt sich Bleiformiat her, indem er in eine wässerige Lösung von Bleiacetat langsam Ameisensäure eintropft, die sich ausscheidenden Krystallnadeln werden koncentrirt in Wasser gelöst. In gleiche Volumina dieser Lösung und 10%iges Formalin werden kleine Stückchen des Centralnervensystems für 5 Tage eingelegt und dann direkt in gleiche Theile 10%igen Formalins und Schwefelwasserstoffwasser übergeführt. Das entstehende Bleisulfid imprägnirt ähnlich wie bei der Golgimethode als feinkörniger Niederschlag Nervenzellen und -fasern.

CORNING hat diese Methode so modificirt, dass er zuerst die Stückchen mit 10%igem Formalin fixirt und dann in eine gesättigte Lösung des käuflichen Bleiformiats (MERCK) einlegt. Die Methode giebt bei jüngeren Thieren oft vollständigere und konstantere Resultate als die Golgimethode.

Litteratur: KRONTHAL (Neurol. Centr., Bd. 18, 1899), CORNINO (Anat. Anz., Bd. 16, 1900).

Blepharoplasten siehe Centrosomen pflanzlicher Zellen.

Bleu Borrel. Koncentrirte Methylenblaulösung wird mit frisch gefälltem Silberoxyd (Höllensteinlösung wird mit Natronlauge gefällt, der Niederschlag sorgfältig gewaschen) geschüttelt, einige Tage stehen gelassen und dekantirt.

Laveran benutzt es in Verbindung mit Eosin zur Färbung von Blutparasiten. 1 Ccm. Bleu Borrel wird versetzt mit 5 Ccm. einer 1⁰/₀₀igen wässerigen Eosinlösung und 4 Ccm. Wasser. In diesem Farbgemisch werden die Präparate 15—18 Stunden gefärbt, in Wasser ausgewaschen und in 5⁰/₀ige Tanninlösung eingelegt.

Litteratur: Laveran (C. r. Soc Biol., Bd. 51, 1899).

Bleu de lumière, Syn. für Gentianablau 6 B.

Bleu de Lyon, Syn. für wasserlösliches Anilinblau (Höchst).

Vielfach als Plasmafärbungsmittel empfohlen und als solches besonders für mit Karmin durchgefärbte embryologische Objekte auch vorzüglich geeignet. Man verwendet es in wässerigen Lösungen entweder koncentrirt oder, was mehr zu empfehlen ist, mit dem gleichen Volum Wasser verdünnt. Die Färbungsdauer beträgt nur wenige Minuten. Es verleiht dem Protoplasma eine schön himmelblaue Färbung, auch die Achsencylinder werden, zumal in Carnoy- und Sublimatpräparaten sehr distinkt gefärbt.

Sehr empfehlenswerth ist die folgende Dreifachfärbung für embryologische Objekte: Karmin-Bismarckbraun-Bleu de Lyon. Die Objekte werden in Boraxkarmin im Stück gefärbt. Dabei ist zu beachten, dass die Karminfärbung nicht zu intensiv sein darf, man also nicht zu lange färben und gut mit Salzsäurealkohol auswaschen muss. Nach stattgefundener Paraffineinbettung kommen die Schnitte für wenige Minuten in möglichst frische koncentrirte wässerige Bismarckbraunlösung (durch Aufkochen hergestellt) und werden dann in 70⁰/₀igem Alkohol so lange ausgewaschen, bis nur noch der Knorpel braun erscheint. Dann Nachfärbung in wässeriger halb verdünnter Lösung von Bleu de Lyon, kurzes Auswaschen in 70⁰/₀igem Alkohol, absoluter Alkohol, Xylol, Balsam. Kerne roth, Protoplasma, Nerven, junger Knochen, acidophile Granulationen blau, Knorpel leuchtend gelbbraun.

Burckhardt verwendet eine 1⁰/₀₀ige schwach alkoholische Lösung nach Durchfärbung in Grenacher'schem Boraxkarmin.

Baumgarten benutzt für den gleichen Zweck eine 0,2⁰/₀ige Lösung von Bleu de Lyon in absolutem Alkohol, färbt 12 Stunden und wäscht 6 Stunden lang aus. Diese längere Färbungsdauer sucht Tonkoff dadurch abzukürzen, dass er der Lösung einige Tropfen Jodtinktur zusetzt oder sie vor der Färbung in stark verdünnter Jodtinktur beizt. Ueberfärbte Schnitte lassen sich in ganz schwach alkalisch oder ammoniakalisch gemachtem Alkohol differenziren (Fiedler).

Maurice & Schulgin färben Ascidienembryonen nach Fixation in heisser Pikrinschwefelsäure in Boraxkarmin und dann 15—18 Stunden lang in einer sehr schwachen, mit etwas Essigsäure angesäuerten Lösung von Bleu de Lyon in 70⁰/₀igen Alkohol.

Litteratur: Burckhardt (Das Centralnervensystem von Protopterus annectens, Berlin, Friedländer, 1892), Baumgarten (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892), Tonkoff (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), Fiedler (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), Maurice & Schulgin (Annal. Sc. nat. Zool., Bd. 17, 1885).

Bleu de nuit, Syn. für Gentianablau 6 B.

Bleu marine, Syn. für Wasserblau.

Bleu soluble, Syn. für Wasserblau.

Blue Black. Syn. Anilin-Blue-Black, Blackley-Blue. Der von Sankey und Bevan Lewis unter diesem Namen in die histologische Technik einge-

führte Farbstoff ist nichts Anderes als ein wasserlösliches Anilinblau englischer Provenienz (LEVINSTEIN, Manchester). LEE und MAYER lassen es unentschieden, ob es sich um Blauschwarz B oder LIGHTFOOT'sches Anilinschwarz gehandelt habe. Keines von beiden ist jedoch richtig, denn der Azofarbstoff Blauschwarz B war damals (1876) noch gar nicht entdeckt und das Anilinschwarz ist bekanntermassen weder in Wasser, noch in Alkohol löslich. Das, was man heute unter dem Namen Anilin-Blue Black bei GRÜBLER in Leipzig erhält, ist das oben erwähnte Blauschwarz B, das den Namen Anilin-Blue-Black völlig zu Unrecht führt, da es mit dem älteren englischen Präparat gar nichts zu thun hat, auch überhaupt nicht in England fabricirt wird.

JELGERSMA verwendet den Farbstoff in wässeriger Lösung von $^1/_{100}$ bis $^1/_{2000}$ und färbt Schnitte des Centralnervensystems 15 Minuten bis 12 Stunden lang, dann einfach Uebertragung in Alkohol, Oel, Balsam. Zellen mit ihren Ausläufern hellblau, Kerne dunkelblau.

SCHMAUS färbt Rückenmarksschnitte von Müllermaterial, das eventuell auch schon gekupfert sein kann, in einer 0,25$^0/_0$igen Lösung in 50$^0/_0$igem Alkohol, die eine Spur Pikrinsäure enthält. Der Zusatz der letzteren bewirkt, dass das Celloidin fast ungefärbt bleibt.

Blut. Die mikroskopische Untersuchung des Blutes geschieht in der einfachsten Weise durch Betrachtung eines frischen Blutstropfens zwischen Deckglas und Objektträger.

Bei diesem verletzlichen Gewebe, bei welchem es schon für die gewöhnliche klinische Diagnose auf so genaue Erhaltung der Strukturverhältnisse ankommt, wie sie in anderen Geweben nur für die subtilsten histologischen Forschungen benöthigt werden, und wie sie sonst auch mit der feinsten Konservirungstechnik kaum erhalten werden können, sind besondere Vorsichtsmassregeln für die Entnahme nothwendig.

Die Blutentnahme geschieht entweder aus einer gelegentlichen Verletzung (Operation, Biopsie: es kann nicht angelegentlich genug empfohlen werden, namentlich bei den nicht seltenen, aus diagnostischen Gründen nothwendigen dermatologischen und syphilidologischen Excisionen, aus der kleinen Wunde vor ihrem Verschluss Blut zu entnehmen, welches hier ganz ohne Druck und reichlich hervorquillt), oder man nimmt das Blut aus einem tiefen Einstich aus der Fingerkuppe, respektive aus einer andern, durch den Zweck der Untersuchung vorgezeichneten Körperstelle. Die Kuppe eines Zeigefingers wird mit Aether, 1$^0/_{00}$iger Sublimatlösung und Alkohol (auf Watte) tüchtig abgerieben, getrocknet und mit einer desinficirten trockenen Paracentesenadel oder (am besten) mit einer halbgebrochenen neuen, vorher in der Flamme ausgeglühten Stahlfeder die Haut schnell und tief eingestochen (EHRLICH). Nur ganz frisch herausquellende Tropfen werden auf einem (mit der Pincette, nicht mit den Fingern angefassten) Deckgläschen aufgefangen und dieses sofort auf einen Objektträger gelegt, so dass das Blut sich zwischen den beiden Gläsern zu dünner Schicht ausbreitet.

Diese Methode, welche die hauptsächlichsten Arten der weissen Blutkörperchen, Gestalt und Formveränderungen der rothen Blutkörperchen zu erkennen gestattet, wird durch Benützung einer Deckglasumrandung, die die Verdunstung am Rande beseitigt (mit Oel, Vaselin, Paraffin, Wachs, KRÖNIG'schem Deckglaskitt u. ä.), verbessert. Zur Erkennung der kernhaltigen rothen Blutkörperchen empfiehlt BETTMANN den Zusatz einer Neutralrothlösung oder das Auffangen des Bluttropfens in einem neutralrothgetränkten Hollundermarkscheibchen und Untersuchung dieses unter dem Deckglas.

Feinere Methoden, namentlich bezüglich der Lebenderhaltung der Blutzellen für längere Beobachtung, sind in letzter Zeit angegeben worden bei Gelegenheit neuerer Untersuchungen über Form und Bedeutung der Blut-

plättchen. Da diese Methoden den bis dahin gebräuchlichen bei weitem überlegen sind, soll hier nicht näher auf diese älteren Bestrebungen, die Blutkörperchen unter dem Mikroskop längere Zeit lebend und beweglich zu erhalten (durch Vermischung mit physiologischer Kochsalzlösung, Paraffinum liquidum, Serum und ähnlichen anscheinend die physiologischen Bedingungen gut nachahmenden Flüssigkeiten), eingegangen werden.

Einen ausserordentlichen Fortschritt bedeuten die neuen exakten Methoden von Deetjen und von Dekhuyzen.

Ersterer räth, das Blut auf einer Agarschicht auszubreiten, deren Zusätze besonders günstige Lebensbedingungen, anscheinend sogar abnorm starke Reizwirkung auf die Blutzellen ausüben.

5,0 Agar werden mit 500,0 Aq. destill. durch halbstündiges Kochen gelöst und sofort (heiss) durch ein Faltenfilter filtrirt.

Zu je 100,0 des Filtrates werden zugesetzt 0,6 Kochsalz; 6,0 — 8,0 einer 10%igen (kalt hergestellten) wässerigen Lösung von metaphosphorsaurem Natrium (Merck) und 5,0 einer 10%igen wässerigen Lösung von Kaliumdiphosphat. Von dem so zubereiteten Agar wird auf einen Objektträger eine Schicht ausgegossen und von der erstarrten Masse nur ein 2 Mm. breiter Streifen stehen gelassen; zur Benutzung wird der zubereitete Objektträger auf Körpertemperatur oder etwas mehr (bis 40°) erwärmt. Auf diesen Agarstreifen wird das Deckgläschen mit dem Blutstropfen aufgelegt und bei der genannten Temperatur auf dem heizbaren Mikroskop untersucht.

Die gleichen Resultate erzielt Dekhuyzen durch Vermischung des Blutes mit besonders sorgfältig hergestellten Kochsalzlösungen. Das Blut wird in isotonischen Kochsalzlösungen aufgefangen, deren Stärke durch Bestimmung des osmotischen Drucks des Blutserums (Gefriermethode) festgestellt wird. Für Säugethiere ist es die 0,9—0,95% Kochsalzlösung. Alle Glasgeräthe müssen vor der Benützung mit rauchender Salpetersäure gereinigt und danach stark trocken erhitzt werden, um sie zu sterilisiren und anhaftende Dünste der im Laboratorium verwendeten Flüssigkeiten zu beseitigen. Das Chlornatrium wird durch mehrfaches Umkrystallisiren gereinigt, das Wasser in Glasgefässen destillirt und alle Lösungen vor dem Gebrauch sterilisirt. Von den unter Anwendung dieser peinlichen Genauigkeit hergestellten Kochsalzlösungen werden je 50 Ccm. in Bechergläser eingefüllt und in diese das Blut unter kräftigem Rühren eingeträufelt, am besten, indem man mit dem angestochenen Finger selbst umrührt. Sodann wird das Glas auf eine Glasschale gestellt und mit einem in diese hineinpassenden grösseren Becherglas zugedeckt. Nach dem Absetzen entnimmt man mit einer Pipette etwas von dem Bodensatz zur mikroskopischen Untersuchung. Diese Blutverdünnungen halten sich recht lange, ehe sie (durch Verschimmelung) verderben.

Diese Verfahren gestatten, auf dem geheizten Objekttisch die Lebensvorgänge im Blutstropfen lange Zeit zu beobachten, eventuell unter Benutzung vitaler Färbungen (A. Wolff), vorhergehender Aufspeicherung der Leukocyten nach dem von Plato angegebenen Verfahren (Wegschwemmen der rothen Blutkörperchen durch einen zwischen Deckglas und Objektträger durchfliessenden Flüssigkeitsstrom, während die weissen Zellen an untergelegten Filtrirpapierfasern hängen bleiben; oder durch Blasen mit einer feinen Pipette auf den Blutstropfen, der auf einige Filtrirpapierfasern getropft ist).

Zur Färbung und zur Konservirung können die frischen Präparate fixirt werden. Zu diesem Zwecke empfiehlt Deetjen, Flemming'sche Lösung oder 1%ige Osmiumsäurelösung unter das Deckglas zufliessen zu lassen, oder auf ein hufeisenförmiges Filtrirpapierstückchen gegossen an den Blutagarstreifen anzulegen. Nach einigen Minuten wird das Deckglas abgehoben, mit Wasser abgespült, in 96%igem Spiritus kurze Zeit gehärtet und gefärbt. Dekhuyzen empfiehlt das Osmacet $^3/_1$ oder $^9/_1$ (3, respektive 9 Theile

2 %iger Osmiumsäure werden mit 1 Theil 6%iger Essigsäure, die $^1/_8$ % Methylenblau enthält, gemischt). Die Färbung geschieht mit Kernfarben (Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin) und Anilinfarben, je nach dem vorliegenden Bedürfniss.

Manche Vorzüge bietet es, das frischaustretende Blut alsbald mit Fixirungsmitteln zu versetzen und in dieser Verdünnung zu untersuchen. Die gebräuchlichsten sind Jodjodkalilösung, Osmiumsäurelösung 2%.

Die Hayem'sche Flüssigkeit: Hydrarg. bichlorat. 0,5, Natr. sulfuric. 5.0, Natr. chlorat. 1,0, Aq. destill. ad 200,0; die Pacini'sche Flüssigkeit: Hydrarg. bichlorat. 2,0. Natr. chlorat. 4,0, Glycerin. 26,0, Aq. destill. 226,0; Marcano'sche Flüssigkeit: Formol 1.0, Natr. chlorat. 1,0. Aq. destill. 85.0 100,0, vor dem Gebrauch mit 2 Theilen Aq. destill. zu verdünnen.

Zur Untersuchung der Blutplättchen dient die Flüssigkeit von Afanassiew: Pepton. sicc. 0·6, Methylviolett 0,01, Physiolog. Chlornatriumlösung 100.0. Steril aufzubewahren!

Diese Lösungen werden entweder mit dem entnommenen Blut vermischt, oder es wird durch einen Tropfen der Lösung hindurch der Hauteinstich gemacht, so dass sofort beim Austreten des Blutstropfens eine Mischung und Fixirung erfolgt.

Die eigentliche Färbetechnik des Blutes hat als Grundlage das fixirte Trockenpräparat. Sie basirt auf den Principien, welche Ehrlich in die Mikroskopie eingeführt hat und welche als mikrochemische Reaktionen in der Struktur der Blutzelle Eigenschaften erkennen lassen, wie es in keinem andern Gewebsbestandtheil bisher gelungen ist. Die Herstellung des gefärbten Trockenpräparats zerfällt in 3 Vorgänge, 1. die Entnahme des Blutstropfens und seine Ausbreitung, 2. die Fixirung des getrockneten Präparats. 3. die Färbung.

Die Vorbereitung zur Entnahme des Bluttropfens ist bereits geschildert worden. Exaktes Arbeiten und Vermeidung aller schädigenden Einflüsse sind die allerersten Vorbedingungen des Gelingens. Von jedem hervorquellenden Blutstropfen wird stets nur einmal mit dem Deckgläschen (mit reiner Watte, Mull, Josefpapier) abgesaugt und ein neu hervordringender benutzt. Es sind nur Deckgläschen von höchstens 0,1 Mm. Dicke brauchbar. Sie werden in Salzsäure oder Salpetersäure eingelegt, dann mit Alkohol und Aether geputzt und vor dem Gebrauch (aus dem absoluten Alkohol, in dem sie aufbewahrt werden können) mit Leinwandläppchen oder Josefpapier trocken abgerieben. Man spannt zur Entnahme das Deckgläschen zwischen die glatten Branchen einer Ehrlich'schen Schieberpincette ein und bedeckt es mit einen zweiten, welches man mit einer leichten flachbranchigen Pincette gefasst und so auf das Bluttröpfchen am Finger aufgetupft hatte, dass es nirgends mit der Haut in Berührung kam. Die Seitenränder der beiden Deckgläschen müssen sich decken. Hat man ein kleines Tröpfchen Blut auf dem 2. Deckglas, so wird nur ein kleiner Theil des ersteren zugedeckt, ist das Tröpfchen etwas grösser geworden, so deckt man einen grösseren Theil des ersten Deckglases zu. In dem Spalt zwischen den Gläschen breitet das Blut sich sofort zu gleichmässiger Schicht aus. Sobald dies geschehen ist, wird das obere Gläschen an den überstehenden Theilen der Seitenränder mit Daumen und Zeigefinger angefasst und schnell flach abgezogen: die Blutlage auf dem unteren wenigstens muss dann ganz gleichmässig und geradrandig sein. Da die Deckgläschen leider sehr zerbrechlich sind, kann man, allerdings nicht als Methode der Wahl, das Tröpfchen Blut auf einem wie die Deckgläschen vorbehandelten möglichst planen Objektträger auffangen und dort durch schnelles Darüberfahren mit einem sauberen geraden Glasstab (der nach jedem Ausstrich sauber abgerieben werden muss) auswalzen. Für die Fixirungsmethoden durch Erhitzung eignet sich dieses Verfahren wegen der verschiedenen Dicke der Objektträger weniger.

Für die Fixirung des Blutes auf dem Deckgläschen können alle auch sonst in der Histologie gebräuchlichen Fixirungsmethoden verwendet werden, doch erreicht man mit keiner einzigen von ihnen die Resultate, welche das ursprüngliche Fixirungsverfahren EHRLICH'S ergiebt, die trockene Erhitzung. Eine 30—40 Cm. lange, circa 10 Cm. breite, 3—5 Mm. dicke Kupferplatte wird durch einen untergestellten Bunsenbrenner oder Spiritusflamme von einer Ecke her längere Zeit erhitzt bis der Siedepunkt aufgetropften Wassers eine konstante Lage erreicht hat (circa 30 Minuten): von dieser Linie der Flamme zu zeigen die Wassertropfen das LEIDENFROST'sche Phänomen, indem sie in Kugelform auf der Metallplatte hüpfen; von der Flamme fort bleiben sie an demselben Ort liegen und verschwinden unter lebhaftem Brodeln. Es ist rathsam, den Standpunkt des Brenners, des Dreifusses, auf dem die Platte ruht, und die Lage der Platte auf dem Dreifuss ein- für allemal genau zu markiren, und diese Geräthe stets wieder in dieselbe Lage zu einander zu bringen. Dadurch erhält auch die Linie des Siedepunktes eine fast konstante Lage. An dieser konstanten Stelle werden die Präparate aufgelegt. Die verschiedenen Farbflüssigkeiten brauchen verschiedene Fixirungszeiten, welche an jeder Platte mit Leichtigkeit ausprobirt werden können. An Stelle der Kupferplatte werden mit Erfolg kleine Trockenöfen benutzt, welche auch einfach auf einem Blechgestell über dem Cylinder der Tischlampe angebracht werden können, oder die VICTOR MAYER'schen Siedekessel, welche eine konstante, 100° etwas übersteigende Temperatur innehalten müssen. Für gewöhnliche Kernfärbungen genügt es bereits, die Präparate in der Art bakteriologischer Objekte einigemale durch die Flamme zu ziehen. — Eine ebensogute Fixirung des Hämoglobins und der Granulationen wie durch starke, kurzdauernde Erhitzung wird durch geringere Erwärmung in längerer Zeit erhalten, z. B. bei 50° (im Paraffineinbettungsschrank), während 24 Stunden und mehr; ja sogar durch mehrwöchiges Liegenlassen der unfixirten Präparate an trockenem und staubgeschütztem Ort bei Zimmertemperatur kann unter Umständen gute Fixirung erreicht werden.

Die Ziele der Blutfärbung sind verschiedenartig. Je mehr der zu erzielenden Färbungen an demselben Präparat zugleich erreicht werden können, desto brauchbarer ist naturgemäss das Verfahren. In den rothen Blutkörperchen handelt es sich um Färbung des Hämoglobins, der Kerne, der Protoplasmadegenerationen und der eingeschlossenen Parasiten; in den Leukocyten um die Kerne und die Vorgänge bei ihrer Theilung, die Granula und sonstige Struktur des Protoplasmas.

Zur Vorbereitung einer reinen Kernfärbung genügt kurzdauernde Erhitzung oder Anwendung chemischer Fixationsmittel: einige Minuten Alkohol absolutus, ½—2 Stunden Alkohol absolut. + Aether (wasserfrei aa., koncentrirte Sublimatlösung 1—2%ige Osmiumsäurelösung, FLEMMING'sche, MÜLLER-sche Flüssigkeit, Formol in jeder Koncentration und in Dampfform. Für Hämatoxylinfärbungen kommen alle gebräuchlichen Hämatoxylinvorschriften zur Verwendung, welche in unserem Fall viel länger einwirken müssen als bei der Schnittfärbung. Allen anderen vorzuziehen ist aber eine gut ausgereifte Lösung von EHRLICH'S saurem Hämatoxylin Eosin:

Krystallisirtes Eosin	0,5
Hämatoxylin	2,0
Alkohol absolut..	
Aq. dest.,	
Glycerin aa.	100,0
Acid. acetic. glacial. . . .	10,0
Alaun im Ueberschuss.	

Die Lösung muss vor dem Gebrauch einige Wochen reifen. Fixirung: Alkohol absol. oder kurze Erhitzung auf der Platte. Färbung ½—2 Stunden. Gut auswaschen mit Wasser. Kerne sehr klar blau, eosinophile Körner roth, Hämoglobin roth, Plasma der neutrophilen Zellen diffus zart rosa.

In vielfachen Modifikationen und mit sehr verschiedenen Zielen werden die ebenfalls die Kernfärbung in den Vordergrund stellenden Eosinmethylenblaumischungen verwandt. Sie sind meist nur kurze Zeit haltbar, zumal die Methylenblaulösung selbst bei längerem Stehen sich färberisch verändert. Die einfachste Anwendung ist die aufeinanderfolgende Färbung mit wässeriger oder Glycerineosinlösung circa 5 Minuten oder länger, danach wässerige Methylenblaulösung circa 1 Minute. Die Präparate müssen ziemlich stark oder lange erhitzt werden. Dasselbe Resultat ergeben die Mischungen von CHENZINSKI:

Koncentrirte wässerige Methylenblaulösung 40,0
$^{1}/_{2}$ %iges Eosin in Spiritus 70 % 20,0
Aq. dest. 40,0
Vor dem Gebrauch zu filtriren.

Fixirung in Alkohol 5 Minuten. Färbung bis 24 Stunden im Brutschrank in luftdicht verschlossenen Schälchen. Kerne blau, Mastzellengranula dunkelblau bis violett, rothe Blutkörperchen und eosinophile Granula roth, anämische Degeneration dunkelblau, intraglobuläre Plasmodien hellblau.

Nach EHRLICH (Anämie, pag. 29):

1 %ige wässerige Eosinlösung . 10,0
Methylal 8,0
Gesättigte wässerige Methylenblaulösung 10,0
Sofort zu verwenden.

Sorgfältige Fixirung durch Erhitzung. Färbung 1—2 (!) Minuten. Eosinophile Körnung roth, Mastzellenkörnung blau, neutrophile Körnung im Mischton.

Nach L. MICHAELIS:

Stammlösung I
1 %ige wässerige Lösung von krystall. (chlorzinkfreiem) Methylenblau 20,0
Alkohol absolut. 20,0
(Nur 2—3 Wochen lang brauchbar.)
Stammlösung II
1 %ige wässerige Lösung von chemisch reinem Eosin . . 12,0
Aceton (Siedepunkt 56—58°) . 28,0
Beide Lösungen werden in gutverstöpselten, mit Paraffin. solid. ausgegossenen Flaschen aufbewahrt.

Zur Färbung wird je 1 Ccm. I und II zusammengemischt, das Deckgläschen in der Flüssigkeit (im Blockschälchen) untergetaucht, $^{1}/_{2}$—10 Minuten unter fortwährender Kontrolle gefärbt: die Färbung ist erst blau, dann röthlich; die Färbung ist beendet, wenn der rothe Ton gerade den blauen verdrängt. Trocknen ohne Erwärmung.

REUTER verwendet ROSIN's Eosinmethylenblau: die alkoholische Lösung des Sediments, welches bei der Mischung wässeriger Eosin- und Methylenblaulösungen zustande kommt, wird mit 2 Ccm. Anilinöl auf 100,0 versetzt. Davon werden einige Tropfen in Wasser getropft. Diese Mischung hält sich 24 Stunden lang. Sie färbt rothe Blutkörperchen roth, Plasmodien blau, Kerne und Granula in zarten Nuancen.

Eine andere Wirkung als die bisher besprochenen Mischungen von Eosin und Methylenblau hat die ROMANOWSKY'sche Färbung und ihre Modifikationen. Zur Färbung dient hier eine Methylenblauabart, auf deren Wichtigkeit bereits vor vielen Jahren UNNA aufmerksam gemacht hat und die in seinem polychromen Methylenblau lange vor der Klarlegung der Verhältnisse durch ZIEMANN, NOCHT, ROSIN, MICHAELIS zu praktischer Verwendung gekommen ist. MICHAELIS hat es wahrscheinlich gemacht, dass es sich hier um ein Oxydationsprodukt des Methylenblau, Methylenazur, handle. Das von MICHAELIS angegebene »Azurblau« (GRÜBLER) wird erhalten durch

Kochen 1%iger Methylenblaulösung 200,0 mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge 10,0. Nach dem Erkalten wird $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure 10,0 zugesetzt. Zur Färbung wird 1 Theil dieser Lösung mit 5 Theilen $^1/_{100}$ Eosinlösung versetzt, durchgeschüttelt, $^1/_4$ Stunde lang gefärbt. Sehr ähnlich ist die Zubereitung des Methylenblau nach ZETTNOW (cf. Färbung nach R. KOCH); die Mischung NOCHT's, der zuerst auf das bei diesen metachromatisch wirkenden Methylenblaulösungen vorhandene »Roth aus Methylenblau« aufmerksam machte (durch Neutralisirung des polychromen Methylenblau mit Essigsäure erhält man die zur ROMANOWSKY'schen Färbung brauchbare Methylenblaulösung); die Zubereitung nach REUTER (Farbstoff durch GRÜBLER erhältlich): 100,0 1%ige Methylenblaulösung + 0,5 Natr. bicarbonic. werden 2—3 Tage auf dem Wasserbade oder im Thermostaten bei 40—60° gehalten, bis sie die NOCHT'sche Rothreaktion giebt (Ausschütteln in Chloroform). Die erkaltete Flüssigkeit wird filtrirt, das Filtrat mit gesättigter wässeriger Eosinlösung ausgefällt, etwas Eosin im Ueberschuss. Von dem ausgewaschenen und getrockneten Niederschlag löst sich 0,2 in Alkohol absolut. 100,0. Dazu wird 2,0 Anilinöl gesetzt. Von dieser haltbaren Flüssigkeit nimmt man 30 Tropfen auf 20,0 Aq. dest. Aus dieser Verdünnung fällt der Farbstoff bald, aber ganz allmählich aus. Färbung 20 Minuten bis $^1/_2$ Stunde bis länger (namentlich bei älteren Präparaten) in offener Schale.

Nach R. KOCH's Vorschrift (KOSSEL) wird zur Färbung nach ROMANOWSKY-ZIEMANN 1,0 koncentrirte wässerige Lösung von Methylenblau medicin. (Höchst) mit 10 Aq. destill. gemischt, dazu 3 Tropfen 5%iger Lösung von krystallisirter Soda, und nun soviel 1%ige wässerige Eosinlösung B. A. extra (Höchst) unter Umschütteln hinzugetropft, bis ein feinkörniger Niederschlag entsteht. Färbung 5—10 Minuten, Differenzirung in einem Doppelschälchen destillirten Wassers, dem eine Oese Essigsäure zugefügt wird, bis der rothe Eosintonschein zum Vorschein kommt. Die rothen Blutkörperchen sind rosa, Kerne der rothen und weissen Blutkörperchen violettroth, Protoplasma von intraglobulären Parasiten blau, ihr Kern leuchtend roth (besonders deutlich bei der Untersuchung mit Gasglühlicht). Die anämische Degeneration der rothen Blutkörperchen ist als blaue Körnung zu sehen im Gegensatz zu den rothvioletten Kernen und Kernderivaten.

Zur isolirten Färbung der Mastzellengranula eignen sich alle metachromatischen, wirklich basischen Farbstoffe, namentlich blaue und violette in verdünnt alkoholischer, glyceriniger oder essigsaurer Lösung. Der einfachste Modus ist eine Lösung von Methylenblau in 70%igem Spiritus. EHRLICH's Vorschrift zur isolirten Färbung dieser Granulationen lautet (WESTPHAL): 100,0 Aq. destill., 50,0 Alkohol absolut. mit Dahlia gesättigt, 10,0 bis 12,5 Eisessig.

Besonders stark metachromatisch zeigen sich die Mastzellengranula bei der Färbung mit Kresylviolett R (extra) Mühlheim, mit Thionin und polychromem Methylenblau.

Zur isolirten Färbung der eosinophilen Granula empfahl EHRLICH (Farbenanal. Stud.) starkrothes Eosinglycerin, Glycerin mit Indulin gesättigt, koncentrirte wässerige Orangelösung. Sehr schöne Färbung giebt die EHRLICH'sche Eosin-Nigrosin-Aurantiamischung: gesättigte Aurantiaglycerinlösung wird mit 1—2 Theilen Glycerin vermischt und darin Eosin und Nigrosin unter langem und häufigen Umschütteln bis zur Sättigung gelöst: Kerne schwarz, eosinophile Körnchen roth, Hämoglobin der rothen Blutkörperchen orange.

Für die neutrophile Körnung ist die Methylenblaueosinmischung nicht sehr brauchbar, obgleich sehr starke Färbung erfolgt. Diese Granulation färbt sich im Menschenblute meist nicht sehr distinkt, mit Eosin roth, mit Eosin und Methylenblau unregelmässig violett, roth oder bläulich, meist

nicht alle Körner einer Zelle gleichmässig, in ROSIN's sogen. eosinsaurem Methylenblau (der Lösung des Niederschlags beim Mischen von wässerigen Methylenblau- und Eosinlösungen) violett. Zur Färbung dieser Körnung dienen die sogenannten neutralen Farbstoffe, namentlich Mischungen von solchen. Zu dieser Färbung geschaffen ist die Triacidmischung von EHRLICH: Nach einander werden mit demselben kleinen (10 Ccm.) Messcylinder in eine saubere Flasche gegossen, gut abgetropft und gleich immer tüchtig umgeschüttelt (Anämie, pag. 28):

Koncentrirte wässerige Orange G-Lösung	13,0—14,0
Koncentrirte wässerige Säurefuchsinlösung	6,0—7,0
Aq. destill.	15,0
Alkohol absolut.	15,0
Koncentrirte wässerige Methylgrünlösung	12,5
Alkohol	10,0
Glycerin	10,0

Die Mischung ist sofort nach der Bereitung brauchbar, wird vor dem Gebrauch nicht filtrirt.

Fixirung kurz, Färbung bis 5 Minuten. Kerne grün bis bläulich, rothe Blutkörperchen orange (wenn das Präparat zu stark erhitzt war, gelb), eosinophile Körner grobrund und kupferfarbig, neutrophile staubartig-fein und violett; Mastzellenkörner ungefärbt als glänzende runde Löcher im wabigen, leicht bläulichgrünen Protoplasma zu erkennen.

Sehr brauchbar ist auch die von EHRLICH bereits empfohlene, ganz besonders aber von PAPPENHEIM hervorgehobene Modifikation des Triacid, in der an Stelle des Methylgrüns Methylenblau gesetzt ist (PAPPENHEIM's panoptisches Triacid, mit dem färbenden Princip des polychromen Methylenblau hergestellt, bei GRÜBLER-Leipzig erhältlich).

Zur Darstellung des Protoplasmas der Lymphocyten dienen entweder reine basische Anilinfarben (unter denen auch wieder das Methylenblau voransteht) oder Mischungen solcher. EHRLICH empfiehlt, gesättigte wässerige Methylgrünlösung mit etwas alkoholischer Fuchsinlösung zu versetzen. Diese Lösung färbt die rothen Blutkörperchen roth, Kerne grün, Lymphocytenleiber fuchsinfarben. PAPPENHEIM nimmt die Lösung von Methylgrün (3 bis 4 Theile) und Pyronin (1—2 Theile), respektive entsprechend Jodgrün-Acridinroth in wenig Wasser.

Die Färbung der Blutplättchen im Trockenpräparat hat gegenüber den vorzüglichen Erfolgen der frischen Beobachtung und der Färbung dieser Präparate (KOPSCH), nachdem sie fixirt worden waren, keine besonderen Vorzüge. DEETJEN färbt die Kerne auch an gewöhnlichen Trockenpräparaten, welche 1—2 Minuten in 96%igen Alkohol gelegt, dann abgetrocknet, mit ½%igem Formol 3—5 Minuten nachfixirt, abgespült und mit Hämatoxylin oder Anilinfarben behandelt werden. ARGUTINSKY stellt sie im Trockenpräparat nach der Methode von ROMANOWSKY-NOCHT in Gestalt rothvioletter Kerne und hellblauen Protoplasmas dar.

In den Blutzellen enthaltenes Glykogen wird am einfachsten und saubersten dadurch nachgewiesen, dass das frische Trockenpräparat für einige Minuten in ein geschlossenes breites Gefäss gelegt wird, welches Jodkrystalle enthält. Durch die Joddämpfe färbt etwa vorhandenes Glykogen sich dunkelbraun. Das Präparat wird dann in Lävulose auf den Objektträger gebettet und mit Deckglaskitt umrandet. Auch nach der ursprünglichen Methode von EHRLICH lässt sich durch Aufkleben des Präparates mit dicker Jodgummilösung eine Glykogenfärbung erzielen. Wichtig ist es bei diesem Verfahren, die Zellen nicht mit Wasser in Berührung zu bringen.

Zur Bestimmung der alkalischen Bestandtheile des Blutes im Trockenpräparat (EHRLICH, Anämie, pag. 31) wird eine Chloroformlösung von freiem

Jodeosin verwendet: wässerige Jodeosinlösung wird angesäuert, der entstehende Niederschlag mit Chloroform ausgeschüttelt. In diese Chloroformlösung wird das Trockenpräparat, welches auf frisch mit Säure gereinigtem Deckgläschen angefertigt sein muss, gelegt, dann in reines Chloroform, Kanadabalsam. Alle alkalischen Bestandtheile: das Blutplasma, Fibrin, Zerfallsprodukte, Protoplasma der weissen Blutkörperchen sind roth, Kerne und rothe Blutkörperchen ungefärbt. Besonders stark alkalisch zeigen sich die Blutplättchen und der Lymphocytenleib.

So vortreffliche Auskünfte die Trockenpräparate ergeben, ist, namentlich zu Vergleichszwecken, häufig die Untersuchung der Blutkörperchen im Schnitt erforderlich. Wo sie im Gewebe selbst vorgenommen wird, unterliegt das Blut den Behandlungen: Fixirung, Einbettung, Färbung, die in der histologischen Technik üblich sind. Das Blut allein wird fixirt in den üblichen Fixationsflüssigkeiten (ausser den oben genannten koncentrirte Sublimatlösung, ZENKER'sche, FLEMMING'sche Lösung). Man fixirt in diesen einige Tropfen flüssigen Blutes (BIONDI) oder Blutcylinder, die den Venen entnommen sind (DE BUCK und DE MOOR). Letztere werden direkt eingebettet und geschnitten. Die Blutkörperchen konservirten frischen Blutes, die als

Fig. 4.

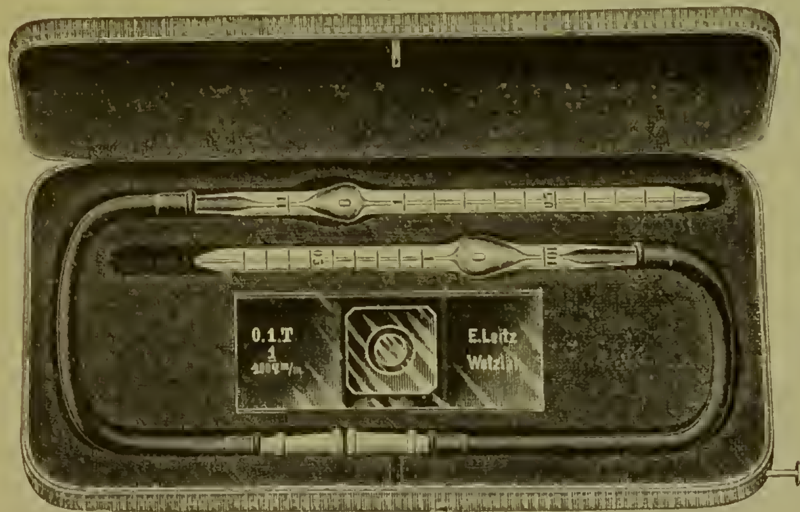
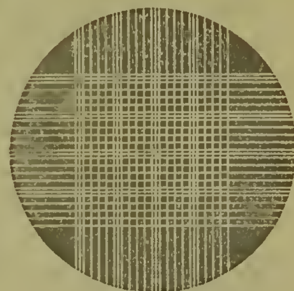


Fig. 5.



Sediment sich am Boden der Fixirungsgefässe befinden, werden mit Pipetten abgehoben und entweder auf Objektträger ausgebreitet und nach dem Antrocknen mit dünnem Celloidin übergossen (RINDFLEISCH, ARNOLD); das Celloidinhäutchen lässt sich abziehen und weiter behandeln. Oder sie werden in leicht schmelzbaren Agar eingebracht, dort unter Umrühren vertheilt (BIONDI). Der Agarblock wird in Spiritus gehärtet und kann entweder so, wie er ist, oder nach Paraffineinbettung geschnitten werden.

Die Zahlenverhältnisse der Blutkörperchen werden am frischen Blute mittels eigener Präcisionsapparate bestimmt und am Trockenpräparat mit Hilfe der EHRLICH'schen Okularblenden.

Für ersteren Zweck ist in Deutschland vornehmlich der THOMA-ZEISS-sche Blutkörperchen-Zählapparat im Gebrauch. Er besteht aus einem grossem Objektträger, auf welchem sich ein Glasplättchen mit netzförmiger Eintheilung in 256 Quadrate befindet (Fig. 4 u. 5). Um dieses herum, durch eine Rinne von ihm getrennt, ist ein Glasring aufgeklebt, dessen plane obere Fläche die Ebene, in der das Netz liegt, um $^1/_{10}$ Mm. überragt. Der Flächeninhalt jedes Quadrates in dem Netze beträgt (bei $^1/_{20}$ Mm. Seitenlänge) $^1/_{400}$ Qmm. Jedes 5. Quadrat ist durch eine Horizontal-, respektive Vertikallinie in zwei Rechtecke getheilt, um die Uebersicht über die Felder zu er-

leichtern. Das Blut wird in eine Mischpipette mit Gummischlauch aufgesaugt. Ein Theil Blut wird in dieser (nach Abwischen des unteren Endes) mit 10 (oder 20) Theilen dünner Essigsäure ($^1/_3$%) für die Zählung weisser Blutkörperchen, mit 100 (oder 200) Theilen Konservirungsflüssigkeit zur Zählung rother Blutkörperchen vermischt und mittels der im oberen erweiterten Ende der Pipette befindlichen Glasperle tüchtig durchgeschüttelt. Als Verdünnungsflüssigkeit für die Zählung der rothen Blutkörperchen dienen physiologische Kochsalzlösung, Hayem'sche, Pacini'sche und ganz besonders Toison'sche Flüssigkeit: Methylviolett 5 B 0,025, Chlornatrium 1,0, Natriumsulfat 8,0, Neutrales Glycerin 30,0, Aq. destill. 160,0.

Von der Blutverdünnung werden die ersten Tropfen aus der Pipette herausgeblasen, dann ein kleines Tröpfchen auf das Zählnetz aufgetragen und mit einem plangeschliffenen Deckglas bedeckt. Dieses muss ganz trocken sein und so dicht auf dem Rand der Zählkammer aufliegen, dass beim Andrücken Newton'sche Farbenringe unter dem Deckglasrand erscheinen. Um dieses Ziel zu erreichen, ist peinliche Sauberkeit des ganzen Apparates nothwendig, namentlich darf keine Flüssigkeit zwischen Deckglas und Rand des umgebenden Glasringes eindringen. Nach einigen Minuten, wenn die Blutkörperchen sich zu Boden gesenkt haben und zur Ruhe gekommen sind, wird mit starkem Trockensystem (Zeiss C oder D, Seibert 5, Leitz 5—7) gezählt, wieviel Blutkörperchen in jedem Quadrat sich befinden. Da jedes Quadrat bei $^1/_{400}$ Qmm. Bodenfläche und $^1/_{10}$ Mm. Höhe $^1/_{4000}$ Ccm. entspricht, ergiebt die in ihm liegende Blutkörperchenmenge bei 10-, respektive 100-facher Verdünnung $^1/_{40000}$ der weissen, respektive $^1/_{400000}$ der rothen Blutkörperchen, bei 20-, respektive 200facher Verdünnung $^1/_{80000}$ der weissen, respektive $^1/_{800000}$ der rothen Blutkörperchen im Ccm. Praktisch angewendet zählt man die am linken und am oberen Rand der Quadrate anliegenden Zellen mit, die am rechten und unteren Rande nicht. Bei 100facher Verdünnung ergiebt die Zählung von 40 Quadraten durch Multiplikation mit 10.000 die Blutkörperchenzahl im Cubikmillimeter, bei 200facher Verdünnung die Zählung von 80 Quadraten durch dieselbe Multiplikation die verlangte Zahl. Entsprechend ergiebt die Multiplikation mit 1000 die Zahl der weissen Blutkörperchen für 40, respektive 80 Felder.

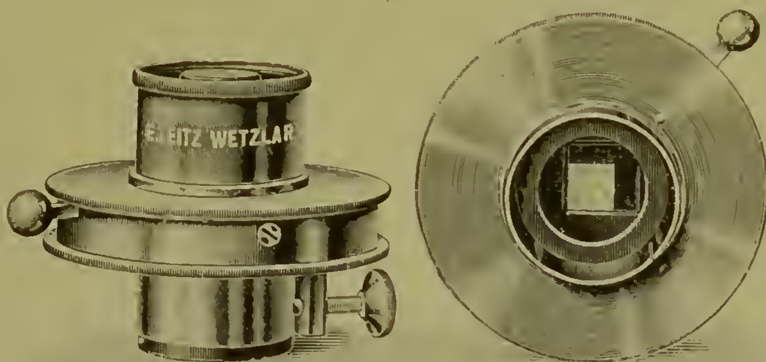
Zur Bestimmung des Verhältnisses zwischen weissen und rothen Blutkörperchen wird die Zählung am Trockenpräparate mittels der Ehrlich-schen quadratischen Okularblenden vorgenommen. Diese werden entweder als einzelne Blenden in ein durch Abschrauben der oberen Linse geöffnetes Okular eingelegt und sind dann in 10 verschiedenen Nummern (von 1 bis 10 Mm. Seitenlänge) vorhanden, oder sie sind in Form einer Irisblende mit 4 verschiebbaren Rändern (Ehrlich-Leitz), von 1—10 verstellbar, fest im Okular untergebracht und durch einen Schieber von aussen her regulirbar (Fig. 6). Erforderlich sind ganz gleichmässig ausgestrichene Trockenpräparate. Mit weiter Blende (z. B. 8 Seitenrand = 64 Quadratfläche) werden die weissen Blutkörperchen in einer Reihe von Gesichtsfeldern gezählt und der Durchschnittswerth berechnet; sodann werden an einer Anzahl von Gesichtsfeldern mit enger Blende (z. B. 2 Seitenlänge = 4 Quadratfläche) die rothen Blutkörperchen gezählt und der Durchschnittswerth festgestellt. Durch Berechnung erhält man das gesuchte Verhältniss. Ergab letztere Zahl 24, so kommen auf die zur Zählung der weissen Blutkörperchen verwendete Fläche $24 \times \frac{64}{4} = 384$ rothe Blutkörperchen; ergab die Zahl der weissen Blutkörperchen in dieser Fäche 4, so ist das Verhältniss w : r = 1 : 96.

Die Bestimmung des Verhältnisses der weissen Blutkörperchen zu einander wird durch einfache Auszählung am Trockenpräparat vorgenommen, wobei auf eine Liste, die alle möglicherweise vorkommenden Leukocyten-

arten vermerkt, durch Striche die einzelnen gesehenen Zellen eingetragen werden. Die Verschiebung des Objektträgers geschieht beliebig mit der Hand oder besser mittels des Kreuztisches. Zur Ausführung dieser Bestimmungen ist die Durchzählung einer grossen Menge von Gesichtsfeldern empfehlenswerth, möglichst auch die Kontrolle durch Untersuchung mehrerer verschiedener Präparate aus demselben Blute. Nur grosse Zahlen (1000 bis 2000 Leukocyten) können hier ein sicheres Bild geben. Erhalten wir bei der Zählung z. B. 1095 neutrophile, 327 Lymphocyten, 25 eosinophile, 2 Mastzellen, 51 Uebergangsformen, so ist das procentuale Verhältniss zwischen diesen 1500 Zellen 73% neutrophile, 21,8% Lymphocyten, 1,7% eosinophile, 0,1% Mastzellen, 3,4% Uebergangsformen.

In zerstörtem Blut, das nur noch Schatten von rothen Blutkörperchen enthält, lassen diese sich wieder sichtbar machen (LANDOIS) durch Zusatz

Fig. 6.



von 20%iger Pyrogallollösung, 3%iger Argent. nitric-Lösung, gesättigte Pikrinsäurelösung oder dünne Jodjodkaliumlösung.

Litteratur: ARGUTINSKY (Anat. Anz., Bd. 19, 1901), BETTMANN (Münch. med. Woch., 1901), DE BUCK und DE MOOR (Belg. méd., 1899), DEETJEN (VIRCH. Arch., Bd. 164, 1901), DEKHUYZEN (Anat. Anz., Bd. 19, 1901), EHRLICH (Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes, 1891, Berlin, Hirschwald), EHRLICH und LAZARUS (Die Anämie. Spec. Pathol. u. Ther. von NOTHNAGEL, VIII, Heft 1, 1898), KOPSCH (Anat. Anz., Bd. 19, 1901), KOSSEL und WEBER (Arb. a. d. kais Gesundheits., 27, 2, 1900), LANDOIS (Real-Encyclopädie v. EULENBURG, 3. Aufl., 1894, Bd. 3), MARCANO (Arch. méd. exp., Bd. 3, ref. SCHMIDT, Jahrb., 265), L. MICHAELIS (Deutsch. med. Woch., 1899), Vereinsbeilage, 1899), L. MICHAELIS (Centr. Bakt., Bd. 29, 1901), NOCHT (Centr. Bakt., Bd. 24, 1898; Bd. 26, 1899), PAPPENHEIM (Deutsch. med. Woch., 1901), PAPPENHEIM (VIRCH. Arch., Bd. 166, 1901), PLATO (Arch. mikr. anat., Bd. 56, 1900), REUTER (Centr. Bakt., Bd. 30, 1901), ROSIN (Deutsch. med. Woch., 1898), ROSIN (Berl. klin. Woch., 1899), ROSIN (Deutsch. med. Woch., Vereinsbeil., 1899), STÖHR (Lehrbuch der Histologie), WESTPHAL (EHRLICH's Farbenanat. Untersuch., Berlin 1891), ALFR. WOLF (Berl. klin. Woch., 1901), ZETTNOW (Zeit. Hyg., Bd. 30, 1899). *Pinkus*, Berlin.

Blut (forensisch). Zweifach sind gewöhnlich die Aufgaben des Gerichtsarztes bei Untersuchungen auf Blut; er soll zunächst nachweisen, ob eine verdächtige Flüssigkeit, ob ein verdächtiger Fleck auf Kleidern, Instrumenten etc. überhaupt von Blut herstammt; bejahenden Falles hat er in zweiter Reihe, wenn möglich, festzustellen, ob dieses Blut Menschenblut ist.

Für die erste Aufgabe dient ihm der Nachweis des Blutfarbstoffes, den er neben chemischen, beziehungsweise spektroskopischen Methoden auf mikroskopischem Wege durch die Häminreaktion führt. Die von TEICHMANN 1853 angegebene Reaktion besteht darin, dass ein Theil, ein abgelöstes oder ausgeschnittenes Stückchen der zu untersuchenden Spur auf den Objektträger mit einigen Tropfen Eisessig und einem Körnchen Kochsalz

langsam bis zum Verdampfen erhitzt wird, wobei sich dann Krystalle von salzsaurem Hämatin bilden. Dieselben erscheinen in Form grösserer scharf abgegrenzter rhombischer Tafeln, kleinerer unvollkommen ausgebildeter derartiger Gestalten, kleinster hanfsamenartiger Kryställchen, die sich häufig in Kreuz- oder Sternform über- und nebeneinander anordnen. Sie besitzen im mikroskopischen Präparat eine gelbrothe Farbe. Im Mikropolarisationsapparat erscheinen sie bei Einstellung auf 0° gelblichbraun auf dunklem Gesichtsfeld, bei Einstellung auf 90° dunkelbraun, fast schwarz auf hellem Gesichtsfeld. Bei Drehung um 360° erscheint der Häminkrystall infolge seines Pleochroismus viermal dunkel und ebenso oft hell.

Die Häminprobe misslingt nicht so selten. Eine Reihe von Schädlichkeiten können, wenn sie auf die zu untersuchende Blutspur eingewirkt haben, das Zustandekommen der Probe verhindern. Sie scheinen hauptsächlich dadurch störend zu wirken, dass sie den Blutfarbstoff in Hämatin umwandeln und dadurch die Lösung des Fleckes erschweren. Es sind besonders atmosphärische Einflüsse (wie Sonnenlicht), ferner die Beschaffenheit der Unterlage (Eisen z. B.), die hier in Betracht kommen. In manchen dieser Fälle erhält man noch ein positives Resultat, wenn man die Essigsäure länger einwirken lässt und die Spur demnach nicht sofort sondern erst nach 12—24stündigem Stehen in Essigsäure zur Reaktion benutzt (Max Richter).

In anderen Fällen ist der negative Ausfall bedingt durch die — stets zu vermeidende — Ueberhitzung des Objekts bei Anstellung der Probe — die Essigsäure soll nicht sieden. Deshalb ist neuerdings (Wachholz) wieder warm die Verwendung einer Mischung von Alkohol (90—95 %) und koncentrirter Schwefelsäure (1:10.000) an Stelle des Essigs empfohlen worden, weil diese Lösung schon bei niedrigerer Temperatur aufkocht und deshalb eine Ueberhitzung bis zum Misslingen der Reaktion bei ihrer Anwendung weniger leicht eintritt. Sonst scheint der Ersatz der Essigsäure durch andere Säuren ebenso wie der des Chlornatrium durch andere Salze keine besonderen Vortheile zu bieten.

Das Misslingen der Reaktion kann auch durch eine zu geringe Menge des zugesetzten Lösungsmittels bewirkt werden. Es wird deshalb empfohlen, die Probe im Uhrschälchen anzustellen, wo man dauernd von dem Lösungsmittel zufliessen lassen kann, und nur die nachherige Untersuchung auf dem Objektträger vorzunehmen.

Für die Unterscheidung von Menschen- und Thierblut haben wir neben der Serumprüfung die verschiedenen Eigenschaften der einzelnen Hämoglobine und die verschiedene Form und Grösse der rothen Blutkörperchen zu berücksichtigen. Die sehr subtilen Unterschiede in dem Aussehen der weissen Blutkörperchen (erheblichere Häufigkeit der neutrophilen Granulationen u. a.) kommen für die gerichtliche Praxis, die es nie mit lebendem oder ganz frischem Blute zu thun hat, nicht in Betracht.

Die einzelnen Hämoglobinarten unterscheiden sich auf chemischem Gebiet durch ihre verschiedene Resistenz gegen Alkalien, auf mikroskopischem durch ihre Krystallform. Zur Prüfung derselben wird von der zu untersuchenden Spur eine möglichst koncentrirte wässerige Lösung hergestellt: von derselben wird ein Tropfen auf den Objektträger gebracht und, sobald der Rand eingetrocknet ist, mit einem Deckglas bedeckt, das aussen durch Lack oder Kanadabalsam (in Xylol) umschlossen wird (Dwornitschenko). Unter günstigen Verhältnissen, speciell bei relativ frischer Blutspur tritt dann — mitunter erst in Tagen — eine Ausscheidung von Hämoglobinkrystallen ein. Im Menschenblut scheinen hierbei die Krystalle von reducirtem Hämoglobin, hochroth bis violettroth gefärbte rechteckige Plättchen, gegenüber den mehr tetraedrischen, hexaedrischen, nadelförmigen der Oxyhämo-

globine zu überwiegen, während es bei den übrigen Thierarten sich gerade umgekehrt verhält.

Die Untersuchung der rothen Blutkörperchen kann bei frischem oder noch feuchtem Blute, das uns aber, wie gesagt, nur ausnahmsweise zur Verfügung steht. geschehen, indem dasselbe mit einer indifferenten Flüssigkeit, wie physiologischer Kochsalzlösung, auf den Objektträger gebracht wird. Empfohlen ist hier auch (Moser) die Anwendung von Formol (Formol 5,0, Liq. Kali acet. 5,0, Kali nitr. 2,0, Aq. dest. 250). Mit dieser Lösung soll das feuchte Material im Verhältniss von 1 : 4 vermischt und nach einiger Zeit ein Tropfen der Mischung auf den Objektträger gebracht werden. Dann fügt man etwas Eosinlösung hinzu, bedeckt mit dem Deckglas, schützt das Präparat durch Wachseinschluss vor Verdunstung und untersucht. Dabei erscheint in dem gefärbten Blutkörperchen des Menschen ein blasses Centrum, das bei anderen Säugethierblutkörperchen nicht in gleicher Grösse und Deutlichkeit hervortritt und neben der Messung der Blutkörperchen zur Unterscheidung dienen kann.

Die Messung selbst wird mit dem Okularmikrometer bei Immersion und gleicher Tubuslänge vorgenommen. Die zu messende Blutzelle muss sich in ihrer Mitte mit der Mitte des Gesichtsfeldes, respektive des Okularmikrometers decken. Nach einmaliger Messung wird die rothe Blutzelle nach rechts unter den Strichen weiter gezogen und noch einmal gemessen, darauf in die Mitte zurückgebracht, dann nochmals gemessen, endlich nach links weiter geschoben und zum viertenmale gemessen (Däubler). Die Messung hat stets an einer grösseren Anzahl zu geschehen, da die Differenzen der einzelnen Körperchen desselben Blutes nicht unerheblich sind und nur die Durchschnittsgrösse massgebend ist. Diese beträgt 8 Mikromillimeter beim Menschen, beim Hunde ist sie nur 0,1, beim Kaninchen und Meerschweinchen 0,3 Mikren kleiner; eine Differenz, die wegen ihrer Geringfügigkeit kaum verwerthet werden kann. Grösser ist der Unterschied gegenüber anderen Säugethieren (Ziege, Schaf, Schwein, Rind), wo er 2 bis 4 Mikren beträgt. Wenn es sich um Unterscheidung von Menschenblut und dem dieser Säugethiere handelt, ist also ein Gutachten eher möglich. Gegenüber den kernhaltigen, ovalen Blutkörperchen anderer Wirbelthiere ergiebt sich diese Möglichkeit ohne weiteres.

Besteht unser Untersuchungsmaterial, wie zumeist, aus Flecken, welche auf Gegenständen angetrocknet oder in solche eingezogen sind, so müssen kleine Theilchen von dem Flecke abgelöst werden. Bestehen sie aus Blut, so lassen sie bei der Untersuchung ohne weiteres Zusatzmittel nichts Näheres erkennen, da die geschrumpften, zerknitterten Blutkörperchen untereinander und mit den Zwischensubstanzen zu strukturlosen Massen zusammengebacken sind. Es bedarf des Zusatzes von Auflösungssubstanzen, die die rothen Blutkörperchen möglichst intakt lassen, die Zwischenmasse lösen sollen.

Als solche sind in Gebrauch 32%ige Kalilauge (Virchow u. a.), welche man neuerdings, um der starken Quellung der Lauge entgegenzuwirken, mit gleicher Menge Formol (40%iges Formaldehyd) zu vermischen empfohlen hat (Puppe), die Hofmann-Pacini'sche Flüssigkeit (300 Theile Wasser, 100 Theile Glycerin, 2 Theile Kochsalz, 1 Theil Sublimat), die Roussin'sche (3 Theile Glycerin, 1 Theil koncentrirter Schwefelsäure, destillirtes Wasser bis zum specifischen Gewicht von 1,028), die Dragendorff'sche (Natriumchlorid 1 Theil, krystallisirtes Natriumsulfat 5 Theile, Wasser 94 Theile), 15%ige Weinsäure (A. Lesser), Alkohol und Aether aa. (Moser) u. a. m. Eine vollständige Uebersicht der (40) empfohlenen Flüssigkeiten giebt Max Richter in seinem unten citirten Artikel. Richter selbst empfiehlt Grübler's Pepsinglycerin, dessen Verwendung gewiss rationell erscheint, aber leider nach des Autors eigenen Erfahrungen durch die grosse Ungleichmässigkeit des Präparates beeinträchtigt wird.

Nach Einwirkung dieser Lösungen lassen die betreffenden Schollen eine pflastersteinartige Struktur erkennen; sie bestehen aus dichtgedrängten, schwachkontourirten, blassgelben, kernlosen Scheiben. Bei Zusatz von 5%iger Essigsäure lässt sich das Fehlen von Blutkörperchenkernen noch besonders konstatiren. Säugethier-, resp. Menschenblut löst sich dann optisch vollkommen auf, während man im Blute der Vögel, Amphibien etc. die Kerne in der strukturlosen Substanz deutlich und so reichlich hervortreten sieht, dass eine Täuschung etwa durch die Kerne der weissen Blutkörperchen von Säugethieren nicht denkbar erscheint.

An den Rändern der Schollen sieht man oft mehr oder weniger wohlerhaltene einzelne Blutkörperchen. An solchen nicht verzerrten, genügend freiliegenden Blutkörperchen kann man auch eine Messung vornehmen, dieselben sind aber meist nur gering an Zahl, so dass hier die Gewinnung eines bestimmten Resultates noch viel mehr erschwert ist als beim frischen Blute. Dazu kommt, dass die Blutkörperchen beim Eintrocknen schrumpfen, dass sie bei Aufweichen mehr oder weniger aufquellen. Unter diesen Umständen ist ein Gutachten über die Herkunft des Blutes an solchen alten Flecken nur ausnahmsweise möglich, und zwar nur in dem Sinne, dass man bei gleichmässigen, sehr kleinen, sonst wohlerhaltenen Blutkörperchen die Abstammung einer Blutspur von Menschen oder einem Säugethier mit grösseren Blutkörperchen ausschliessen kann.

Unter Umständen können auch für die Bestimmung der Herkunft von Blutspuren (Menstrualblut etc.), Beimengungen von anderen Formelementen, wie Epithelzellen, Vorhandensein oder Fehlen des Fibrins von Bedeutung sein. Es ist dann eine der üblichen Kernfärbungen oder die Weigert'sche Fibrinfärbung anzuwenden, bezüglich deren wir auf die entsprechenden Artikel Bezug nehmen.

Litteratur: Max Richter (Vierteljahrschr. f. ger. Med., 1900), Wachholz (ibidem, 1901), Dwornitschenko (ibidem), Moser (ibidem), Strassmann-Carrara (Manuale di medicina legale, 1901), Hirschfeld (Virch. Arch., Bd. 149, 1897), Ziemske (Zeits. Medicinalbeamte, Beilage 1900), Max Richter (Friedreich's Blätter, 1900), Däubler (Vierteljahrschr., 1899), Puppe (ibidem).

Strassmann, Berlin.

Blutgefässe. Die histologische Bearbeitung der Blutgefässe richtet sich nach den allgemeinen Principien der Mikrotechnik und erfordert keine wesentlichen besonderen Vorkehrungen. Man wird kleinere und mittelgrosse Gefässe, wenn möglich immer mit ihrem natürlichen Inhalte, zusammen fixiren, um eine Deformirung des Querschnittes thunlichst zu vermeiden, eventuell kann man sie auch vor der Fixation mit einer Gelatinemasse ausfüllen oder noch besser sie mit der Fixationsflüssigkeit injiciren und die prall gefüllten Gefässe in jene einlegen. In jedem Falle wird man immer gut thun, das zu untersuchende Gefässstück doppelt zu unterbinden, der Länge nach auf ein dünnes Holz- oder Glasstäbchen aufzubinden und in die Fixationslösung einzulegen.

Zum Fixiren der Gefässwand eignet sich vor allem der absolute Alkohol, ferner das koncentrirte Sublimat und seine Gemische, wie Zenker, Pikrinsublimatessigsäure etc.

Von Färbungsmitteln empfehlen sich neben den verschiedenen Kernfarbstoffen hauptsächlich die Methoden zum Studium der elastischen Elemente und von diesem wieder vor allem die Weigert'sche Methode zur Färbung der elastischen Fasern (siehe elastische Fasern). Sehr instruktive Bilder erhält man, wenn man die mit dem Weigert'schen Farbstoff behandelten und in Alkohol differenzirten Schnitte mit der Gieson'schen Pikrinsäurefuchsinmischung kurze Zeit nachfärbt. Man erhält dann die elastischen Fasern blauschwarz, das Bindegewebe roth und die Muskulatur gelb. Man kann mit Vortheil für diesen Zweck in Boraxkarmin durchgefärbte Präparate verwenden.

Ferner vergleiche man die Artikel: Injektion. Golgimethode, Methylenblaufärbung. Silberimprägnation.

Blutkörperchen siehe Blut.

Blutkreislauf siehe Lebendes Objekt. Beobachtung desselben.

Blutkrystalle. Das Oxyhämoglobin der verschiedenen Thierarten besitzt die Fähigkeit, aus dem Blut in charakteristischen 3—10% Krystallwasser enthaltenden Krystallen auszukrystallisiren, und zwar erfolgt die Ausscheidung derselben umso leichter, je schwerer das Oxyhämoglobin löslich ist. Man kann in dieser Beziehung folgende Reihe aufstellen: Am leichtesten löslich ist das Oxyhämoglobin des Menschen, dann folgen Rind. Schwein, Hund, Pferd, Eichhörnchen und Meerschweinchen. Das Blut des letzteren Thieres wird gewöhnlich zur Darstellung der Krystalle benutzt.

Zur Darstellung der Oxyhämoglobinkrystalle auf dem Objektträger genügt es oft. einen Tropfen des defibrinirten Blutes mit einem Tropfen Wasser anzurühren und dann zu warten, bis die Randschichten eingetrocknet sind. Legt man dann ein Deckglas auf, so schiessen sehr bald aus dem flüssig gebliebenen Blut die Krystalle an.

Bessere Resultate erhält man, wenn man auf dem Objektträger einen Ring von nicht zu flüssigem Kanadabalsam zieht, in seine Oeffnung einen Tropfen Blut bringt und das Ganze mit einem Deckglas bedeckt. Die ersten Krystalle schiessen gewöhnlich beim Meerschweinchenblut ungefähr nach einer Stunde an.

Noch sicherer geht man. wenn man das zu untersuchende Blut mit Wasser verdünnt in einem Reagensglas mit Aether schüttelt und dann einen Tropfen der sich am Boden absetzenden dunklen Flüssigkeit in der oben erwähnten Weise behandelt.

Nach Gage kann man sehr grosse Oxyhämoglobinkrystalle von Necturus erhalten, wenn man einen Tropfen defibrinirten Blutes mit einem Tropfen 2%igen Chloralhydrats mischt, ein Deckglas auflegt und dann durch Umranden vor Verdunstung schützt.

Um Methämoglobinkrystalle zu erhalten, schüttelt Halliburton erst einige Cubikcentimeter defibrinirten Blutes mit einigen Tropfen Amylnitrit so lange. bis es dunkelchokoladefarbig wird. Dann verfährt er ähnlich wie oben.

Litteratur: Gage (Proc. Amer. Soc. Micr., Bd. 14, 1891), Halliburton (Quart. Journ. micr. Sc. N. S., Bd. 28, 1887).

Blutpigment. Unna benutzt zur Erkennung des Blutpigments in der Haut zwei Methoden. Färbung der Schnitte mit Karbolfuchsin und Entfärben mit koncentrirter wässeriger Tanninlösung, bis nur noch die Kerne leicht gefärbt sind, oder Färbung mit polychromem Methylenblau mit Differenziren in Tannin. Das Hämosiderin färbt sich nach der ersten Methode intensiv roth, nach der zweiten blauschwarz. Das Melanin dagegen färbt sich nach der ersten Methode gar nicht, nach der zweiten smaragdgrün.

Blutplättchen siehe Blut.

Blutserum. Das bei der mikroskopischen Untersuchung vielfach als indifferente Zusatzflüssigkeit verwendete Blutserum wird dadurch erhalten, dass man das Blut im kühlen Raum stehen lässt, es entsteht dann bei der Gerinnung der Blutkuchen, der bei seiner Zusammenziehung das Blutserum auspresst. Es ist meist eine gelbe, klare Flüssigkeit, die beim Menschen ein specifisches Gewicht von 1,028 hat. Es enthält beim Pferd nach Hoppe-Seyler 9,2% feste Stoffe, darunter 7,7% Eiweiss, 0,1% Fett, 0,4% Extraktivstoffe, 0,6% lösliche und 0,17% unlösliche Salze. Unter

den Säugern bleibt die Menge der anorganischen Stoffe ziemlich konstant. die Eiweissmenge ist dagegen erheblicheren Schwankungen unterworfen, so enthält Hundeserum nur 5,8% Eiweiss. Bei Vögeln sinkt die Eiweissmenge auf 3,9, bei Amphibien (Frosch) sogar auf 2,5%.

Künstliches Blutserum siehe **Beobachtungsflüssigkeiten, indifferente.**

Borax, Natriumpyroborat, Natrium biboracicum, $Na_2B_4O_7 + 10H_2O$. Das Natriumsalz der Pyroborsäure findet sich unter dem Namen Tinkal im Wasser vieler asiatischer Seen gelöst. Heutzutage wird er hauptsächlich durch Neutralisation der in den toskanischen Maremmen natürlich vorkommenden Borsäure mit Natriumkarbonat oder durch Kochen des amerikanischen Borkalkes mit Natriumkarbonat gewonnen. Farblose Prismen, welche bei 15° zu 7% in Wasser löslich sind. Beim Erhitzen bläht der Borax auf und verliert sein Krystallwasser (gebrannter Borax), bei noch weiterem Erhitzen schmilzt er zu einem farblosen, durchsichtigen Glas. In Alkohol ist Borax unlöslich. Die wässerige Lösung reagirt schwach alkalisch und wird durch Mineralsäuren unter Bildung von Borsäure zersetzt.

Der in der Technik ausserordentlich viel benutzte Borax findet auch in der Mikrotechnik vielfache Verwendung, vor allem deshalb, weil seine wässerige Lösung ein sehr gutes Lösungsmittel für viele unserer Farbstoffe ist, vor allem für Karmin, aber auch für manche Anilinfarben, wie Methylenblau, Methylgrün, Thionin etc.

Boraxkarmin siehe Karmin.

Bordeaux, das Natriumsalz der α-Naphtalin-azo-β-naphtol-A-disulfosäure (Höchst) $C_{10}H_7.N:N.C_{10}H_4(OH)(SO_3Na)$, kommt in verschiedenen Nuancen in den Handel R, RB, B; braunes bis violettes Pulver, das sich in Wasser leicht, je nach der Marke mit mehr rother oder brauner oder gelbbrauner Farbe löst. Säuren verändern die Lösung kaum. Natronlauge giebt rothe Fällung. In koncentrirter Schwefelsäure löst sich der Farbstoff mit blauer Farbe. Giebt sehr beständige, direkte Färbungen.

Von Griesbach in die Mikrotechnik eingeführt und als Kernfärbungsmittel für Hermannpräparate empfohlen. wird es in neuerer Zeit ausschliesslich als Plasmafarbstoff, vor allem bei der Hämatoxylin Eisenalaunmethode verwendet.

Gräberg kombinirt es mit Methylgrün und Thionin zusammen zu einer Dreifachfärbung. Man bereite sich eine 1%ige Lösung von Bordeaux R, eine ½%ige von Thionin und eine 1%ige von Methylgrün. Der letzteren setzt man auf 100 Theile 25 Ccm. absoluten Alkohols zu. Man mische nun 4 Theile Bordeaux mit 2 Theilen Thionin und 9 Theilen Methylgrün und verdünne zur Färbung 5 Theile dieser Stammlösung mit 95 Theilen destillirten Wassers. Filtriren. Schnitte von Sublimatmaterial werden in dieser Lösung 24 Stunden lang gefärbt und in 93%igem Alkohol. dem auf 100 Theile 4—6 Tropfen Essigsäure zugesetzt sind, so lange ausgewaschen, bis keine Farbwolken mehr abgehen. Zur Neutralisirung der Essigsäure setzt man die Schnitte dann einige Sekunden lang Ammoniakdämpfen aus. Absoluter Alkohol, Xylol, Balsam. Die Methode eignet sich nur für Sublimatmaterial und vor allem für Milz, Hoden und Leber.

Borodin'sche Prüfung. Unlöslichkeit einer Substanz in ihrer koncentrirten Lösung zur mikrochemischen Identificirung (vergl. Bot. Zeit. 1878, pag. 805) siehe Asparagin.

Magnus, Berlin.

Borsäure, Acidum boricum, H_3BO_3, bildet glänzende, schuppige Krystalle, die sich zu 4% langsam in kaltem, zu 30% in kochendem Wasser lösen. Die Lösung reagirt schwach sauer. Absoluter Alkohol löst

circa 12—15%, Glycerin etwa 10%, Aether nur sehr wenig. Sowohl beim Kochen von wässeriger, als auch vor allem alkoholischer Lösungen verflüchtigen sich erhebliche Mengen von Borsäure.

Die Borsäure, die in der Technik vielfach zum Konserviren von Nahrungsmitteln dient, hat in der Mikrotechnik nur eine sehr beschränkte Anwendung gefunden.

Nach Engelmann soll sie in koncentrirter wässeriger Lösung ein sehr gutes Macerationsmittel für das flimmernde Darmepithel von Muscheln sein. Zacharias empfiehlt einen Zusatz von Borsäure zu koncentrirter Sublimatlösung zur Fixation von Flagellaten (koncentrirte Borsäure 2 und koncentrirtes Sublimat 3).

Arcangeli benutzt die Borsäure an Stelle von Borax zur Bereitung von Karminlösungen. Er löst 0,5 Grm. Karmin in 100 Grm. 4%iger wässeriger Borsäure durch 10 Minuten langes Kochen, oder er setzt zu 100 Ccm. koncentrirter Alaunlösung 2 Grm. Borsäure und löst in derselben Weise darin 0,25 Grm. Karmin. Ganz ähnlich stellt Lübimoff ein Borsäurefuchsin zur Färbung der Tuberkel- und Leprabacillen dar.

Litteratur: Engelmann (Pflüger's Arch., Bd. 23, 1880), Zacharias (Zool. Anz., Bd. 22, 1899), Arcangeli (Proc. verb. Soc. Toscana Sc. nat., 1885), Lübimoff (Centr. Bakt., Bd. 3, 1888).

Mosse, Berlin.

Brachiopoden siehe Molluscoideen.

Brasilin ($C_{16}H_{14}O_5$, genauere Struktur nicht sicher bekannt), wird aus dem Rothholz (Fernambuk- und Sappanholz von Caesalpinia brasiliensis etc.) in ähnlicher Weise wie das Hämatoxylin aus dem Blauholz gewonnen; die Krystalle enthalten entweder 1 oder 1½ H_2O. Es geht an der Luft allmählich in Brasileïn ($C_{16}H_{12}O_5$) über, verhält sich also auch hierin analog dem Hämatoxylin. In der Mikrotechnik wird es bisher nur in Verbindung mit Aluminium, Chrom oder Eisen benutzt, und zwar:

a) mit Aluminium. Das dem Hämalaun entsprechende Brasalaun (Mayer) färbt ähnlich, aber lange nicht so intensiv wie jenes oder das Karmalaun und ist daher entbehrlich; zur Tinktion der Ganglienzellen verwendet Heimann ein dem Delafield'schen Hämatoxylin entsprechendes Gemisch.

b) mit Chrom. Flechsig bringt Schnitte durch Nervengewebe, das in Kaliumchromat (2%) gehärtet worden ist, erst in Alkohol (96%), dann auf 3—8 Tage in eine wässerige Lösung von Sappanholzextrakt (1 Grm. in 900 Wasser, dazu etwas Weinsteinsäure und Natriumsulfat) und entfärbt sie zuletzt nach Pal. Die Methode ist veraltet.

c) mit Eisen. Die Schnitte werden nach Hickson zuerst 1—3 Stunden lang mit einer alkoholischen Lösung von Eisenalaun (1 Grm. zu lösen in 23 Ccm. Wasser, dazu 77 Ccm. Alkohol von 90%; setzt allmählich stark ab) behandelt, dann mit Alkohol von 70% abgespült, auf 3 bis 6 Stunden in eine ½%ige Lösung von Brasilin in 70%igem Alkohol gebracht, wieder mit Alkohol gewaschen und in Balsam übertragen. Nur ausnahmsweise ist eine Nachbehandlung mit dem Eisenalaun nöthig.

Litteratur: Lee und Mayer (Grundzüge, 2. Aufl., 1901, pag. 225 ff.), Hickson (Q. Journ. Micr. Sc. (2), Vol. 44, 1901).

Mayer, Neapel.

Brechweinstein, Tartarus stibiatus, Antimonkaliumtartrat, $K(SbO)C_4H_4O_6 + \frac{1}{2}H_2O$, weisse Krystalle oder krystallinisches Pulver, das zu 5—6% in kaltem, zu 30% in siedendem Wasser löslich, in Alkohol unlöslich ist. Bei längerer Aufbewahrung verlieren die Krystalle auch in geschlossenen Gefässen einen Theil ihres Krystallwassers. Die wässerige Lösung reagirt schwach sauer und hat einen widerlich süssen Geschmack. Versetzt man eine Tanninlösung mit Brechweinstein, so scheidet sich ein

auch im Ueberschuss des Fällungsmittels unlöslicher Niederschlag von unbekannter Zusammensetzung aus.

Auf der letzteren Eigenschaft beruht die Anwendung des Brechweinsteins in der technischen Färberei. Er wird nämlich zur Fixation von Tannin auf der Baumwollfaser benutzt in Gegenwart von Chlorammon. Als Ersatz des Brechweinsteins dienen andere Antimonsalze, wie Antimoniumkaliumoxalat, Fluorantimon mit schwefelsaurem Ammon, sogenanntes Antimonsalz und frisch gefälltes Antimonhydroxyd.

Aehnlich wird der Brechweinstein auch in der Mikrotechnik von RAWITZ, ZETTNOW und COX benutzt (vergl. Tannin). *Mosse*, Berlin.

Brillantblau, grünlich, Syn. für Methylblau (Elberfeld).

Von VAN WISSELINGH als Kernfärbungsmittel für botanische Zwecke empfohlen.

Litteratur: VAN WISSELINGH (Bot. Zeit., Bd. 57, 1899).

Brillantcongo R, rother Azofarbstoff, erhalten durch Kombination von Tolidin mit Naphtylamindisulfosäure (Berlin, Elberfeld). Die braunrothe wässerige Lösung giebt mit Salzsäure braunen und mit Natronlauge rothen Niederschlag. In Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich, beim Verdünnen entsteht ein braunschwarzer Niederschlag.

Brillantcroceïn, Disazofarbstoff (Höchst, Elberfeld), braunes, in Wasser und Alkohol mit rother Farbe lösliches Pulver. Mit Salzsäure brauner Niederschlag, mit Natronlauge färbt sich die Lösung braun. In Schwefelsäure mit rothvioletter Farbe löslich. Giebt keine waschechten Färbungen.

Brillantgelb, brauner Disazofarbstoff (Berlin), der in Wasser und Alkohol mit gelber Farbe löslich ist. Die Lösung färbt sich mit Natronlauge gelbroth, mit Salzsäure violetter Niederschlag. In Schwefelsäure rothviolett löslich.

Brillantgrün, Triphenylmethanfarbstoff, Sulfat des Tetraäthyldi-p-amidotriphenylcarbidrids (Ludwigshafen, Höchst, Elberfeld). Goldglänzende, in Wasser und Alkohol leicht mit grüner Farbe lösliche Krystalle. Die Lösung wird durch Salz- oder Schwefelsäure gelbroth verfärbt, Natronlauge fällt den grünen Farbstoff aus. Das Brillantgrün ist dem Malachitgrün nahe verwandt.

Bromäthyl. Aether bromatus, C_2H_5 — Br. Klare, farblose, flüchtige, angenehm ätherisch riechende Flüssigkeit von neutraler Reaktion. Bromäthyl ist in Wasser unlöslich, in Weingeist und Aether löslich. Siedepunkt 38 bis 40°; specifisches Gewicht 1,45. Bromäthyl wird zur allgemeinen Narkose verwendet, in der Technik von HEYMANS zur Betäubung der Cephalopoden in subkutaner Injektion.

Litteratur: HEYMANS (Bull. Acad., Belg. Bd. 32, 1896). *Mosse*. Berlin.

Bromwasser. Eine Lösung von Brom in Wasser (1 : 30). Braunrothe Füssigkeit von sehr unangenehmem Geruch, welche die Schleimhäute stark reizt. Bei starkem Abkühlen liefert das Bromwasser ein krystallinisches Bromhydrat von der Zusammensetzung 2 Br + 10 H_2O.

Das Brom besitzt ähnlich, wie das Chlor, stark oxydirende Eigenschaften, darauf ist auch seine Verwendung in der Mikrotechnik als Entpigmentirungsmittel begründet.

Bromwasserstoff ist ein farbloses Gas, das sich bei 73° zu einer farblosen Flüssigkeit verdichtet. In Wasser löst sich das Gas bei 0°

zu 82,02% zu einer stark sauren Flüssigkeit, der **Bromwasserstoffsäure**, Acidum hydrobromicum, vom specifischen Gewicht 1,78. Die destillirte koncentrirte Bromwasserstoffsäure soll bei 15° 48% Bromwasserstoff enthalten und ein specifisches Gewicht von 1,49 besitzen. Sie soll frei von Brom und deshalb ganz farblos sein. Beim Stehen an der Luft bräunt sie sich unter Abscheidung von Brom. Das officinelle Acidum hydrobromicum enthält 25% Bromwasserstoff und hat ein specifisches Gewicht von 1,209.

Die Bromwasserstoffsäure ähnelt in ihrer Wirkung auf die thierischen Gewebe sehr der Essigsäure und giebt wie diese, vor allem in Verbindung mit Alkohol ein gutes Fixationsmittel ab. Am meisten empfehlen sich Gemische von absolutem Alkohol mit 10—20% Bromwasserstoffsäure (specifisches Gewicht 1,49).

Greppin benutzt die Säure zur Bromirung von Golgipräparaten (siehe dort).

Brot als Nährboden für Pilze. Gewöhnliches ungesäuertes Brot wird von seiner Kruste befreit, im Trockenapparat einer Temperatur von 120° ausgesetzt, es ist dann sicher sterilisirt und wird in eine sterilisirte Krystallisirschale gelegt und mit der heissen sterilisirten Nährflüssigkeit bespritzt, bis es sich vollgesogen hat.

Litteratur: Strasburger (Gr. b. Pr. 3 A.) *Magnus*, Berlin.

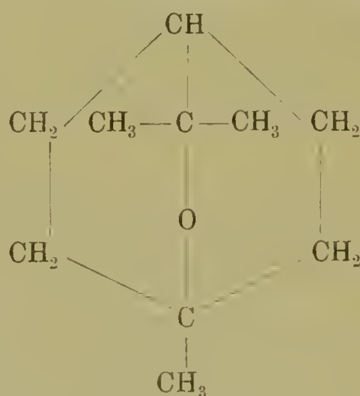
Brucin siehe Alkaloide, pflanzliche.

Bryophyten siehe Moose.

Bryozoen siehe Molluscoidea.

C.

Cajeputöl, Oleum Cajeputi, entsteht bei der Destillation sämmtlicher Theile (Aeste, Zweige, Blätter) der auf den Molukken heimischen Myrtacea Melaleuca Cajeputi. Es ist nicht einheitlicher Natur und lässt sich durch fraktionirte Destillation in mehrere Antheile zerlegen. Der bei 176° siedende Antheil bildet das Cineol, eine kampherartig riechende Flüssigkeit, die als zweisäuriger Alkohol folgender Konstitution angesehen wird:



Neuberg, Berlin.

Das Cajeputöl bildet eine farblose oder grünliche Flüssigkeit von kampherartigem Geruch. Sein specifisches Gewicht beträgt bei 15° 0,92. Mit Alkohol von 80% ist es nach vorübergehender Trübung klar mischbar, mit Schwefelkohlenstoff mischt es sich nicht klar. Gepulvertes Jod löst sich in Cajeputöl leicht und erstarrt beim Abkühlen zu einem Krystallbrei. Es greift Celloidin und Anilinfarben nicht an. Für die Mikrotechnik ist es zuerst von Stieda empfohlen, dann aber hauptsächlich von Nissl eingeführt worden.

Calciumacetat, Calcium aceticum, $(C_2H_3O_2)_2Ca + H_2O$, durch Neutralisation von 30%iger Essigsäure mit Calciumkarbonat in der Wärme erhalten. Nadelförmige, leicht verwitternde Krystalle, die leicht in Wasser, schwer in Alkohol löslich sind.

Das Calciumacetat spielt in der technischen Färberei eine grosse Rolle als Zusatz zu den verschiedensten Färbebädern, vor allem für Blauholz, Brasilholz, Alizarin. Es färben diese Stoffe nur in kalkhaltigem Wasser und man setzt deshalb da, wo mit kalkfreiem Wasser gearbeitet wird, dem Färbebad Calciumacetat zu. In ähnlicher Weise wird es auch von Rawitz bei seiner Alizarinmethode verwendet (siehe Alizarin).

Calciumchlorid, Chlorcalcium, $CaCl_2$, bildet hexagonale Säulen, die an der Luft leicht zerfliessen. Erwärmt man sie, so schmelzen sie zu-

nächst in ihrem Krystallwasser und verwandeln sich bei 200° in eine poröse Masse, die das bekannte Trockenmittel der Chemiker liefert. Dasselbe ist zu 66% in Wasser von 15°, zu 13% in Alkohol löslich, in Aether unlöslich. Chlorcalcium dient zum Nachweis von Weinsäure und ihren Salzen.

Chlorcalciumlösung ist von SCHACHT und KOCH als Einschlussmittel für zartwandige, protoplasmaarme botanische Objekte empfohlen worden. Sie hellt wegen ihres geringen Brechungsindex (1,411 bei 15°) die Präparate nur wenig auf und verdunstet nicht infolge ihrer starken Wasseranziehung. An Stelle der reinen 10—20%igen Chlorcalciumlösung kann man auch eine Lösung von 20 Grm. Chlorcalcium in einer Mischung von 40 Glycerin, 25 Alkohol und 100 Wasser benützen.

Calciumchlorid dient ferner zur Herstellung mancher Farblösungen, wie Parakarmin, Hämacalcium, Cochenille, wie ja überhaupt die Calciumsalze in der technischen Färberei eine grosse Rolle spielen.

Litteratur: SCHACHT (Das Mikroskop. Berlin 1862), HARTING (Das Mikroskop. II. Aufl. 1886), KOCH (Jahrb. wiss. Botanik, Bd. 24, 1892).

Calciumbichromat siehe Chromsaure Salze.

Calciumkarbid, CaC_2, grauschwarzes Pulver oder Stücke, welche durch Zusammenschmelzen von Aetzkalk und Kohle im elektrischen Ofen erhalten werden. Es wird in neuerer Zeit in ausgedehnter Weise zur Darstellung des Acetylen verwendet, indem man auf den trockenen Körper Wasser auftropfen lässt.

YVON benutzt das Calciumkarbid zur Erkennung des Wassers im Alkohol. Eine Spur Wasser ruft schon Acetylengasentwicklung hervor.

Litteratur: YVON (Compt. rend., Bd. 125, 1897).

Calciumkarbonat findet sich bekanntlich in weiter Verbreitung in der Natur als Kalkspath, Marmor, Kalkstein, Kreide etc. Es bildet in reinem Zustand ein weisses, krystallinisches Pulver, das beim Glühen in Kohlensäure und Calciumoxyd zerfällt. In reinem Wasser ist es nahezu unlöslich, löslicher in kohlensäurehaltigem Wasser. Es reagirt schwach alkalisch.

In der Mikrotechnik wird es zum Neutralisiren von durch Säure entkalkten Präparaten benutzt, indem man die Präparate z. B. aus Salpetersäure in Alkohol überträgt, dem man pulverisirtes Calciumkarbonat zugesetzt hat (siehe auch Kalk).

Calciumpikrat, $(C_6H_2(NO_2)_3O)^2Ca + 5H_2O$, entsteht durch Neutralisation von Calciumhydroxyd mit Pikrinsäure und bildet sehr leicht in Wasser und Alkohol lösliche Prismen.

Es wird von WHITE in Verbindung mit Erythrosin zur Färbung von glatten Muskeln benutzt.

Litteratur: WHITE (Journ. of. Anat. Phys., Bd. 35, 1901).

Calciumverbindungen in Pflanzenzellen. Die in lebenden Pflanzenzellen auftretenden Krystalle oder krystallinischen Ablagerungen gehören fast alle (ausser Carotin und Eiweisskrystallen) den Calciumverbindungen an. und zwar am häufigsten dem Calciumoxalat, weniger häufig dem Karbonat, sehr selten dem Sulfat oder Tartarat an.

1. Die Calciumoxalatkrystalle treten im Zellsaft in den mannigfachsten wohl ausgebildeten Formen des tetragonalen oder monosymmetrischen Systems (Blattparenchym von Tradescantia discolor) auf, häufig in Büscheln parallel liegender Krystallnadeln, Raphiden (Blätter der Entengrütze, Lemna) oder in komplicirten Drusen (Rinde der Linde), die mehr oder weniger (Sphärite) die Krystallform erkennen lassen, oder sie sind der Membran eingelagert (Sternhaare im Stengel der Seerose, Nuphar). — Sie

sind unlöslich in Wasser und Essigsäure, löslich in Salzsäure, manchmal auch, wenn sie etwa von Schleim umhüllt, auch in koncentrirter nur langsam. Schwefelsäure löst unter Abscheidung von Gypsnadeln, die bei sehr geringer Menge auch in Wasser gelöst bleiben können. Direkt in Gyps verwandelt werden sie beim Kochen in koncentrirter Schwefelsäure. Koncentrirte Kalilauge löst oxalsauren Kalk erst nach Stunden unter Neubildung anderer Krystalle. — Um über die topographische Lage der Krystalle im Gewebe im allgemeinen Aufklärung zu erhalten, werden die im Chloralhydrat, das Calciumoxalat nicht angreift, aufgehellten Theile (Blätter, siehe Aufhellung) in polarisirtem Licht untersucht.

2. Das zumeist der Membran ein- oder aufgelagerte Calciumkarbonat ist unter Aufbrausen leicht löslich in verdünnter Essigsäure und in Salzsäure. Um das Aufbrausen gut sichtbar zu machen (beim langsamen Auflösen löst sich die Kohlensäure leicht sofort im Untersuchungswasser), ist heisse Salzsäure anzuwenden. Soll dagegen die feine Schichtung und radiäre Streifung der Grundsubstanz der kalkreichen Cystolithen (z. B. Querschnitt durch das Blatt des Gummibaumes, Ficus elastica) sichtbar gemacht werden, muss die Auflösung möglichst langsam mit sehr verdünnter Salzsäure geschehen.

3. Calciumsulfatkrystalle sind mit Sicherheit nur bei Desmidiaceen (Cosmarium), in den Endvakuolen und auch im ganzen Plasma zerstreut, gefunden worden. Sie sind unlöslich in koncentrirter Schwefelsäure, mit Chlorbarium und Salzsäure werden sie in Bariumsulfat verwandelt, während Calciumoxalatkrystalle in ihnen verschwinden. Sie sind unlöslich in Essigsäure, löslich in Kali, Salz- und Salpetersäure.

4. Calciumtartarat (nur beobachtet in vergilbten Blättern des echten und wilden Weins, Vitis und Ampelopsis) ist fast momentan löslich in 10%iger Kalilauge.

Litteratur: Schimper (Flora. 1890).

5. Calciumphosphat kommt fast nur innig mit Magnesium in organischer Substanz vereint in den Globoïden der Aleuronkörner (siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle) vor, z. B. bei Ricinus in kugeliger, bei Paranuss in traubiger Gestalt. Sonst tritt es ähnlich der folgenden Verbindung nur in Form von Sphäriten, Sphärokrystallen (koncentrisch geschichtete krystallinische Kugeln, die aus radiär angeordneten Krystallnadeln bestehen) beim Einlegen der Pflanzentheile in Alkohol oder Glycerin, meist jedoch erst nach längerer Zeit (Wochen) auf. (Grundparenchym fleischiger Euphorben: E. caput medusae.) Sie enthalten, sei es nur in der Mitte, sei es durch die ganze Masse, eine organische Substanz und sind entsprechend theilweise oder ganz in Boraxkarmin oder Methylenblau tingirbar (siehe Inulin).

Litteratur: Leitgeb (Mit. bot. Inst. Graz, 2. H., 1888).

Sie sind langsam löslich in Wasser, leicht löslich in Salz- und Salpetersäure. In Schwefelsäure werden sie unter Ausscheiden von Gypsnadeln gelöst. Zum Nachweis der Phosphorsäure, wie allgemein in der botanischen Mikrotechnik, wird die Reaktion mit Magnesiumsulfat und Chlorammonium, die von der Anwesenheit organischer Säuren unabhängig, angewandt; 25 Vol. koncentrirte wässerige Magnesiumsulfatlösung, 2 Vol. koncentrirte wässerige Chlorammoniumlösung, 15 Vol. Wasser. Die entstehenden rhombischen phosphorsauren Ammonium-Magnesiumkrystalle haben charakteristische Sargdeckelform oder X Gestalt. In anderen Fällen, zumal in Aschen, wird zum Nachweis der Phosphorsäure auch die gewöhnliche Reaktion mit mit Salpetersäure angesäuertem, molybdänsauren Ammonium benutzt; meist ist leichtes Erhitzen nothwendig. Die entstehenden grünlich-gelben phosphor-

molybdänsauren Krystalle des regulären Systems sind meist Kombinationen von Würfel und Oktaeder.

Litteratur: Schimper l. c., Strassburger (Gr. bot. Prakt.), Ueber organische Phosphorsäuren vgl. Litteratur: Iwanoff (Jahrb. wiss. Bot. 36, pag. 359, 1901).

6. Calciummalat. Apfelsaurer Kalk im Wedelstiel von Angiopteris erecta in 60%igem Alkohol. Nachweis mit der Borodin'schen Probe (siehe Asparagin).

Litteratur: Belzung und Poirault (Journ. Bot., 1892).

7. Calciumpektat (siehe Zellmembran pflanzlicher Zellen).

Der Nachweis des Calciums in der Pflanzenasche geschieht durch Gypsbildung mit 2%iger Schwefelsäure. eventuell durch Eintrocknen (tafelförmige Krystalle 127° 31′ und Zwillingskrystalle). Im Zellsaft scheidet sich bei Zusatz von oxalsaurem Ammonium Calciumoxalat in Form kleiner tetragonaler Pyramiden, heiss monokliner schmalovaler Krystalle aus.

Litteratur: Schimper l. c. *Magnus*, Berlin.

Callose = Callus; siehe Zellmembran, pflanzliche.

Camera lucida siehe Zeichnen, mikroskopisches.

Camera, mikrophotographische, siehe Mikrophotographie.

Campescheholzextrakt, Blauholzextrakt, wird bereitet durch Extraktion, eventuell unter 1—2 Atmosphären Druck, des zerkleinerten Holzes von Haematoxylon campechianum, einer hauptsächlich in Centralamerika, Mexiko und den Antillen heimischen Cäsalpiniacee. Der Extrakt enthält neben Farbstoffen gewöhnlich noch wechselnde Mengen von Harzen, Fetten, Gerbsäure, Glykosiden etc. Die einzelnen Extrakte sind ausserordentlich verschieden in ihrer Zusammensetzung und werden ausserdem noch häufig durch Melasse oder andere Extrakte verfälscht. Zur Werthbestimmung muss man eine Probe auskochen und auf Wolle färben, welche mit Kaliumbichromat und Weinstein gebeizt ist.

Der Farbstoff des Campescheholzes ist das Hämateïn, das aber nur in reducirter Form als Hämatoxylin in dem Holze enthalten ist, wahrscheinlich in Form eines Glykosids.

In der technischen Färberei, und zwar hauptsächlich in der Wollfärberei, wird das Blauholzextrakt mittels Eisenoxydsalzen oder chromsauren Salzen zum Schwarzfärben oder -drucken viel benutzt. Die Eisenlacke sind gegen Licht, Alkalien, Seifen und Säuren wenig resistent, viel haltbarer dagegen sind die Chromlacke. Die Baumwolle wird 2 Stunden in ein kaltes Bad aus Blauholzextrakt, Natriumbichromat und Salzsäure gebracht und bis zum Sieden dann erhitzt. Die entstehende tiefblaue Farbe verwandelt sich nach dem Auswaschen in kalkhaltigem Wasser in schwarz. In neuerer Zeit wird das Blauholzextrakt mehr und mehr durch Anilinfarben, besonders das Azoschwarz, verdrängt.

In der Mikrotechnik wird das Blauholzextrakt nur noch ganz vereinzelt verwendet und lässt sich auch in jeder Beziehung durch Hämatoxylin, resp. Hämateïn ersetzen.

Carbazol, Imidodiphenyl, $C_{12}H_8NH$, wird als Nebenprodukt bei der Anilinfabrikation gewonnen; farblose, bei 238° schmelzende Blättchen.

Es wird in alkoholischer Lösung zum Nachweis von Lignin benutzt.

Carnoy's Gemisch siehe Alkohol.

Carotin siehe Chromatophorenfarbstoffe, pflanzliche.

Cassiaöl, Ol. cinnamomi cassiae, Ol. cassiae, Zimmtöl, durch Destillation des Zimmts gewonnen. Gelbliches, dickes Oel von angenehmem, aromatischem Geruch. Besteht im wesentlichen aus Zimmtsäurealdehyd, $C_9 H_8 O$. Specifisches Gewicht bei 15° 1,06. Siedepunkt bei 200°. Reagirt schwach sauer. Mischt sich mit 90%igem Alkohol ohne Trübung. Brechungsindex 1,567.

Von STIEDA als Aufhellungsmittel empfohlen. Für Celloidinschnitte ungeeignet, da es Celloidin löst.

Cedernholzöl, Cedernöl, Oleum cedrae virginicae, durch Destillation des Holzes von Juniperus virginianae gewonnen bildet es ein dickflüssiges, gelbliches Oel, welches aus dem Cedren, $C_{15} H_{23}$, und dem Cedernkampher, $C_{15} H_{26} O$, besteht. Specifisches Gewicht 0,95 bei 15°. Brechungsindex 1,51 bis 1,52 bei 20°. Mischt sich mit 95%igem Alkohol.

Das Cedernöl ist, abgesehen von seiner Bedeutung als Immersionsöl, vor allem als Intermedium von SCHIEFFERDECKER und BOLLES LEE empfohlen worden, es soll sehr schonend wirken bei der Ueberführung aus Alkohol in Paraffin, hat aber den Nachtheil, dass es nur sehr langsam eindringt. Nach unseren Erfahrungen hat es durchaus keine Vorzüge vor dem Chloroform oder Benzol. Ausserdem wird es noch in ausgedehntem Masse in der Celloidintechnik verwendet (siehe Celloidin).

Celloidin. Erst die Erfindung des Mikrotoms ermöglichte eine gedeihliche Entwicklung der histologischen Kenntnisse, indem sie den Forscher unabhängig machte von einer gewissen, bis dahin nothwendigen manuellen Geschicklichkeit. Ein empfindlicher Mangel blieb aber noch bestehen: die gut fixirten Objekte setzten oft durch ihre Konsistenz oder Brüchigkeit dem Schneiden grosse Widerstände entgegen. Anfangs machte man zur Umgehung dieser Schwierigkeiten den manchmal auch zum Ziele führenden Versuch, einen das Objekt einhüllenden Mantel aus erstarrenden Massen zu schaffen; diese »Einhüllungsmethoden« stellten nur ein Uebergangsstadium zu den weitaus vollkommeneren Durchtränkungsmethoden dar.

Der Zweck dieser Methoden ist bekanntlich der, die Konsistenz der Gewebe so zu erhöhen, dass ein Bröckeln und Zerfallen derselben auch bei ganz dünnen Schnitten nicht eintritt. Die betreffenden durchtränkenden Substanzen müssen also nicht nur etwa Lücken in den Objekten ausfüllen, sondern auch imstande sein, das Gewebe zu durchdringen, so dass bei ihrem Erstarren Gewebe und Einbettungsmasse die gleiche und zur Herstellung von Schnitten richtige Festigkeit erhalten.

Von den zwei uns heute zur Verfügung stehenden Methoden wird (bei dem Paraffinverfahren) die Einbettung in der Wärme, bei dem Celloidinverfahren bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen.

Das Celloidin verdient schon aus dem Grunde, dass die Einbettungsprocedur in einer auch die zartesten Gewebe nicht irritirenden Temperatur vor sich geht, manchmal den Vorzug. Ein weiterer nicht zu unterschätzender Vortheil ist der Umstand, dass das Celloidin, einmal in die Gewebe eingedrungen, aus denselben nicht entfernt zu werden braucht und so bis zu den letzten Manipulationen den Schnitten die vorzügliche Konsistenz erhält. Die Entfernung des Celloidins ist nicht nothwendig, wenn eine nachträgliche Färbung der Schnitte vorgenommen werden soll, da bekanntlich das Celloidin von den meisten Farbstoffen höchstens ganz schwach und in einer für die mikroskopische Betrachtung zu ignorirenden Weise mitgefärbt wird.

Diesen Vorzügen gegenüber haftet der Celloidineinbettung der Nachtheil an, dass der Feinheit der Schnitte Grenzen gesetzt sind: nur unter ganz besonders günstigen Umständen gelingt es, mit der Schnittdicke unter 10 μ herunterzugehen. Will man dünnere Schnitte haben, so ist man auf

die Paraffinmethode angewiesen, mit der sich allerdings auch nur bei kleinen Objekten dünne Schnitte gewinnen lassen. Bei grossen wird für gewöhnlich die Celloidineinbettung mindestens dasselbe, wenn nicht mehr, an Feinheit der Schnitte leisten.

Wenngleich schon LATTEUX [41]) sich die Eigenschaften des Kollodiums zunutze gemacht und bei Anfertigung von Schnitten durch Haare letztere vorher mit Kollodium zusammengeklebt hatte, so gebührt doch DUVAL [18]) ausschliesslich das Verdienst der Erfindung unserer hier zu erörternden Einbettungsmethode; denn LATTEUX hatte das Kollodium nur als einhüllende und nicht als durchtränkende Substanz angewendet. DUVAL gelang es jedoch noch nicht, die Trübung des Einbettungsmaterials beim Einschliessen der Schnitte in Kanadabalsam zu verhindern, so dass er seine Schnitte in Glycerin aufbewahren musste. Die Methode erfuhr erst allgemeinere Verbreitung, als SCHIEFFERDECKER [57]) die Entwässerung der Schnitte ohne Auflösung des Einbettungsmaterials erreichte und an Stelle des Kollodiums das Celloidin setzte.

Celloidin ist in seiner chemischen Konstitution nichts anderes als Kollodium. Letzteres stellt bekanntlich das Dinitrat der Cellulose dar und entsteht durch Einwirkung verdünnter Salpetersäure auf Cellulose. Während aber die Kollodiumwolle häufig durch andere organische Substanzen verunreinigt ist oder eine nachtheilige Säureverbindung enthält, ist die von der chemischen Fabrik auf Aktien (vorm. E. SCHERING) in Berlin dargestellte Celloidinwolle frei von allen Beimischungen. Diese reine Celloidinwolle wird in Form von gelatineartigen, durchsichtigen Tafeln zu 200 Grm. in den Handel gebracht; jede Tafel enthält 40 Grm. trockene Celloidinwolle.

Bevor wir auf die zahlreichen, theils Verbesserungen, theils Verschlechterungen der Methode darstellenden Modifikationen eingehen, möge vorher ganz kurz das Celloidineinbettungsverfahren, wie es gewöhnlich gehandhabt wird, geschildert werden. Man stellt sich 2 oder besser 3 Lösungen von Celloidin (in Alkoholäther zu gleichen Theilen) her durch Auflösen der in feinste Würfel geschnittenen und getrockneten Celloidinplatte. Die erste soll ganz dünnflüssig, etwa wie das officinelle Kollodium oder noch dünner, die zweite etwas dicker, die dritte von der Konsistenz dicken Syrups sein. Die beliebig fixirten Objekte werden durch aufsteigende Alkoholbehandlung vollkommen entwässert, dann, falls es das Material erlaubt, eine grösste Fläche des Objekts mit einem Rasiermesser glatt geschnitten, damit diese Fläche später dem Präparatenklotz gut anliegt.

Bei Präparaten von nicht über 5—8 Mm. Dicke genügt ein durchschnittlicher Aufenthalt von 1—2 Tagen in jeder der 3 Celloidinlösungen zur vollständigen Durchtränkung. Die Objekte werden aus der dicksten Celloidinlösung direkt möglichst schnell auf einen trockenen oder mit dünner Celloidinlösung bestrichenen Präparatenklotz gebracht, demselben leicht angedrückt und können dann, sobald das Celloidin so fest geworden ist, dass ein Nageldruck stehen bleibt, in 70—80%igen Alkohol gebracht werden. Dort erreichen sie bereits nach 1—3 Stunden eine schnittfähige Konsistenz.

Zum Schneiden bedient man sich eines langen, zum Einspannen in den Messerschlitten mit einem Schlitz versehenen Messers; dasselbe wird zum Objekt so steil gestellt, dass womöglich die ganze Länge der Messerschneide ausgenützt wird, und permanent mit 70%igem Alkohol feucht gehalten. Die Schnitte werden in 70%igem Alkohol aufbewahrt und können nun den gewünschten Färbungen unterzogen werden. Beim Einschliessen der Schnitte darf die Entwässerung nur in 96%igem Alkohol vorgenommen werden; der Rest von Wasser wird mit Bergamott- oder Origanumöl oder Karbolxylol entfernt, nach Substitution des Oels durch Xylol das Präparat in Kanadabalsam eingeschlossen.

1. Modifikationen bei der Vorbereitung der Gewebstheile.

Zur Umgehung der völligen Entwässerung der Stücke mittels absoluten Alkohols hat POKROWSKI[60]), der das gewöhnliche Verfahren für schwierig, zeitraubend und theuer hält, eine Methode angegeben, die meiner Ansicht nach nur komplicirter und durch den Gebrauch anderer theurer Reagentien keineswegs ökonomischer sich gestaltet. Die Eigenschaft des Aethers, schon mit schwachen Alkoholen (von 55% ab) sich zu mischen, benützt derselbe und überträgt die in Alkohol gehärteten Stücke direkt in häufig zu wechselnde Aetherportionen. Der wasserhaltige Alkohol wird schnell durch den Aether ersetzt. Statt der gewöhnlichen Celloidinlösungen bedient er sich solcher nur mit Aether hergestellten. Auch dadurch soll der ganze Process beschleunigt werden. Nach Durchtränkung und Aufkleben der Stücke dürfen dieselben zur Erlangung der Schnittkonsistenz nicht in verdünnten Alkohol gebracht werden, sondern — und das bedeutet entschieden keine Vereinfachung des sonst üblichen Verfahrens — zuerst in eine Aether-Chloroformmischung (4 : 1), da der Alkohol eine zu schnelle Schrumpfung der Celloidinätherlösung bewirken würde. Erst wenn in dieser Mischung die Härtung eingetreten ist, kann man die Stücke in Alkohol übertragen und schneiden.

FISH[22]) verwendet zur Härtung und Entwässerung Aceton, SOUZA[60]) Pyridin, das nach ihm für die Nervenhistologie besonders geeignet ist und zu gleicher Zeit fixirt, härtet, entwässert und aufhellt. Bei seinem unerträglichen Geruch wird sich dasselbe nicht viel Freunde erworben haben.

Die vollkommene Entwässerung der Präparate lässt sich auf billige Weise erreichen mit Verwendung ein und desselben Alkohols für längere Zeit, wenn man dem Alkohol ausgeglühtes Kupfersulfat hinzusetzt, das in diesem Zustand ein weisses Pulver darstellt, und zwar in solcher Menge, dass dasselbe ungefähr 1 Cm. Höhe in einer 300 Grm. fassenden Medicinflasche einnimmt. Zweckmässiger als solche Flaschen sind sogenannte Exsiccatoren, d. h. flachere, gut verschliessbare Schalen, die auf halber Höhe sich nach innen unvermittelt verjüngen, so dass eine untere Abtheilung von kleinerem Durchmesser als die obere gebildet wird. In den Boden des Gefässes kommt ausgeglühtes Kupfersulfat, die untere Abtheilung zur Hälfte ausfüllend, obere und untere Abtheilung sind durch ein Drahtnetz getrennt. Die ganze Wanne wird nun mit möglichst koncentrirtem Alkohol gefüllt. Stücke, die in gewöhnlichem Alkohol gehärtet sind, werden in die Flasche übertragen und schweben nun auf dem Drahtnetz, ohne mit dem Kupfersulfat selbst in Berührung zu kommen und dasselbe aufzuwirbeln. Wenn das Kupfersulfat anfängt, seine grauweisse Farbe zu verlieren und grünlich zu werden, so filtrirt man den Alkohol, glüht in einem Metalltiegel das alte Kupfersulfat wieder aus, und sogleich ist die Entwässerung mit dem filtrirten Alkohol in dem Exsiccator wieder möglich.

Das ausgeglühte Kupfersulfat kann auch in Stangenform dadurch gebracht werden, dass man es in mehrfache Lage Leinwand einwickelt. Diese Anwendungsweise, wie sie z. B. im anatomisch-biologischen Institut zu Berlin gebräuchlich ist, hat den Vortheil, dass beim Ausgiessen des Alkohols aus der Flasche der sonst am Boden liegende Kupfersulfatsatz nicht aufgewirbelt wird und sich dem Alkohol nicht beimischt. Die Stücke können nach der Entwässerung sofort in die Celloidinlösung gebracht werden, besonders wenn sie nicht sehr gross sind. Ganz zweckmässig ist es jedoch, sie vorher eine Alkohol-Aethermischung passiren zu lassen. SCHIEFFERDECKER[57]) hat das Verhältniss beider Flüssigkeiten wie 1 : 1 gewählt, FLORMANN[25]) wie 1 : 3, TUBBY[65]) wie 1 : 4, DUVAL[18]) endlich wie 1 : 10; da die SCHIEFFERDECKER'sche Zusammensetzung die gleiche ist wie die zur Herstellung der Celloidinlösung gebräuchliche, so dürfte sie wohl am zweckmässigsten sein.

II. Herstellung der Celloidinlösungen.

Die Celloidintafeln, welche in gut abschliessenden Blechkapseln verpackt, in den Handel kommen, werden nach ihrer Entnahme sofort in zwei Hälften getheilt, jede Hälfte in möglichst kleine Würfel geschnitten [Apáthy[3]) und Elschnig[19])] und nun bei Zimmertemperatur und Fernhaltung von Staub ausgetrocknet. bis sie vollkommen hart und durchsichtig sind und eine gelbliche Farbe und hornähnliche Konsistenz angenommen haben. Enthält eine Blechkapsel mehrere Tafeln. so thut man gut, bei Entnahme nur einer einzigen den Deckel der Blechkapsel an letztere wieder mit Papierstreifen zu kleben, um so eine Austrocknung der übrigen Tafeln zu verhindern. denn eine ausgetrocknete Tafel ist sehr schwer schneidbar. Die schnelle Lösung des Celloidins ist aber natürlich abhängig von der Grösse der Flächen, auf welche das Lösungsmittel einwirken kann. Je feiner wir also die noch nicht getrocknete Celloidintafel zerstückeln, desto schneller dürfen wir eine Lösung erwarten.

Die getrockneten Celloidinschnitzel einer halben Tafel (also 20 Grm. trockene Celloidinwolle) werden am besten in eine sogenannte Oelflasche gebracht, die circa 300 Ccm. fasst und mit je 100 Ccm. absoluten Alkohols und ganz wasser- und säurefreien Aethers übergossen. Auch hier ist es gut. Alkohol und Aether zu verwenden, die durch ausgeglühtes Kupfersulfat ganz wasserfrei gemacht sind. Wenn man von Zeit zu Zeit den Bodensatz mit einem Glasstab aufrührt, so tritt schon nach 24—48 Stunden eine vollkommene Lösung des Celloidins ein. Dieselbe ist etwa 10%ig, hat die Konsistenz eines dicken Syrups und stellt eine genügend dicke Lösung zur Einbettung dar. Bedient man sich eines von Elschnig[19]) angegebenen kleinen Kunstgriffs, so geht die Lösung das Celloidins noch schneller vor sich. Man übergiesst die Celloidinstückchen zuerst nur mit absolutem Alkohol und fügt erst, wenn das Celloidin ganz aufgequollen ist, die gleiche Menge Aethers hinzu. Aus der Stammcelloidinlösung stellt man sich nun durch Verdünnen mit Aetheralkohol zu gleichen Theilen eine solche von der Konsistenz des Collodium duplex und eine noch dünnere von der Zähigkeit des ganzen dünnen Kollodiums her. Je dünner letztere Lösung ist, desto leichter dringt dieselbe in die Präparate ein. Die fertigen Celloidinlösungen hebt man deshalb am besten in sogenannten Oelflaschen auf, weil bei diesen eine Verunreinigung der die Flasche abschliessenden Ränder durch Celloidin bei seiner Entnahme ausgeschlossen ist und so ein vollkommen hermetischer Abschluss garantirt wird.

Rollett[52]) wählt die Koncentration seiner Einbettungsmasse so, dass auf 1 Grm. Celloidin (wohl nicht getrocknetes!) 4 Ccm. einer Alkohol-Aethermischung zu gleichen Theilen kommen.

Apáthy[3]) bereitet seine Celluloidinlösungen folgendermassen: die Celloidinstückchen werden nur mit soviel Flüssigkeit übergossen, dass nach mehreren Tagen nicht die ganze Menge gelöst ist, sondern ein Theil gequollen und unaufgelöst auf dem Boden zurückbleibt. Der gelöste Theil wird abgegossen und mit gleichen Theilen Alkohol-Aether übergossen und stellt dann die zur Einbettung genügend koncentrirte Lösung dar. Diese letztere wieder mit gleichen Theilen Alkohol-Aether übergossen, stellt die zweite und diese wieder mit der gleichen Menge der Alkohol-Aethermischung verdünnt, die zuerst zur Durchtränkung anzuwendende Lösung dar.

Um ein recht sicheres Eindringen des Celloidins in das Präparat zu erreichen, hat Samassa[56]) angegeben, dem Alkohol-Aethergemisch, in welchem die Präparate liegen, allmählich Stückchen trockenen Celloidins zuzufügen. bis die Lösung eine zur Einbettung hinreichende Konsistenz besitzt.

Auch andere Lösungsmittel für das Celloidin wurden in Vorschlag gebracht. Erwähnt wurde bereits das Verfahren von Pokrowski[50]), welcher das Celloidin nur in Aether auflöst.

Stepanow[61]) bedient sich einer Lösung von Celloidin in Nelkenöl und Aether, welche einmal den Vorzug schneller Imbibition hat (in weniger als 24 Stunden), dann bis zu 3 μ feine Schnitte liefert und endlich sehr bequem die doppelte Einbettung in Celloidin-Paraffin gestattet. Derselbe geht von einer Normallösung folgender Zusammensetzung aus:

feinste, gut getrocknete Celloidinspähne . . .	1,5 Grm.
Nelkenöl	5,0 Ccm.
Aether	20,0 Ccm.
absoluter Alkohol tropfenweise bis	1,0 Ccm.

Je wasserfreier der Aether, desto mehr Alkohol muss der Lösung hinzugefügt werden. Da das Einbettungsverfahren mit dieser Mischung in seinen weiteren Manipulationen von dem gewöhnlichen ganz verschieden ist, so möge es an dieser Stelle gleich geschildert werden.

Das vollkommen entwässerte Objekt, das von dem an ihm haftenden Alkohol durch Abtupfen mit Fliesspapier befreit wird, kommt auf 3—6 Stunden in ein gut verschliessbares, 4—5 Ccm. der Normallösung enthaltendes Gefäss. Hierauf wird durch Oeffnen des Gefässes die Lösung in weiteren 4—6 Stunden unter einer nicht hermetisch abschliessenden Glocke eingedickt. Dann Eingiessen der Lösung in ein Filter von Seidenpapier, in welches unter einer nicht abschliessenden Glasglocke, womöglich an einem warmen Orte, die Eindickung und damit die Aufhellung des Präparats schnell vor sich geht. Bei nicht genügender Einbettungsmasse wird manchmal noch ein Zufügen von etwas Normallösung nothwendig. In weiteren 4—6 Stunden ist die Einbettung so weit vollendet, dass das Präparat folgenden weiteren Manipulatiouen unterzogen werden kann.

A. Schneiden in Alkohol. Das Präparat wird, nachdem man es von überschüssiger Einbettungsmasse befreit hat, auf einen Holzkork geklebt, dessen Poren Stepanow durch eine Kollodiumschicht verschliesst. Nach Verweilen einiger Minuten an der Luft wird der Kork auf 24 Stunden in 70 bis 80igen Alkohol gelegt, dem man zwecks schnellerer Härtung 10—30% Chloroform zugefügt hat. Das Präparat wird noch schneller durch Chloroform (in 2—3 Stunden) oder Chloroformdämpfe (in 1—2 Stunden) schnittfähig, jedoch ist auch hier ein nachträglicher, 2—4stündiger Aufenthalt in 70 bis 85%igeu Alkohol erforderlich.

B. Schneiden auf trockenem Wege. Das aufgeklebte Objekt wird 4—6 Stundeu lang Chloroformdämpfen ausgesetzt, die sich dabei ausscheidende Oelschicht wird durch einen ans Objekt gebrachten Streifen Fliesspapier abgesaugt. Das Präparat, welches bei diesem Verfahren ganz durchsichtig wird und eine gute Orientirung ermöglicht, ist dann mit trockenem Messer schneidbar, die so gewonnenen recht dünnen Schnitte (bis 5 μ) könneu sogleich auf den Objektträger und unter Oel gebracht werden.

C. Benzolmethode. Dieses Verfahren hat vor den sub *A* und *B* geschilderten den Vorzug, dass es nachträglich noch alle bekannten Methoden, insbesondere mit Leichtigkeit die doppelte Celloidin-Paraffineinbettung vorzunehmen gestattet, auf welche weiter unten eingegangen werden soll. Es kommt dabei das frisch eingebettete Objekt auf 6—8 Stunden in Benzol, wird so seines Oels beraubt und kann auch in diesem unbegrenzt lange aufbewahrt werden. Will man das Präparat nach der Trockenmethode schneiden, so braucht man es nur nach *B* Chloroformdämpfen auszusetzen; zieht man vor, unter Alkoholbefeuchtung Schnitte anzufertigen, so legt man es in 85%igen Alkohol.

Zu erwähnen wäre noch, dass es sich bei schwer schneidbaren Objekten empfiehlt, nach der Entwässerung die Präparate mit Nelkenöl bis zur Aufhellung zu durchtränken und dann erst in das Celloidingemisch zu bringen.

Tschernischeff[64]), welcher mit der geschilderten Methode keine befriedigenden Resultate erzielt hat, bearbeitet seine Objekte folgendermassen:

1. Je 24stündiges Verweilen der Objekte
a) in absolutem Alkohol zur Entwässerung,
b) in Anilinöl zur Aufhellung,
c) in Alkohol-Aetherlösung (1 : 2) zur Entölung,
d) in der halb mit Aether verdünnten Stepanow'schen »Normallösung« (s. oben) zur Durchtränkung.

2. Vorläufiges Härten der Celloidinlösung an der Luft durch Oeffnen der das Präparat enthaltenden Schale.

3. Einlegen in Benzol auf eine Viertelstunde.

4. Härten in 80—85%igem Alkohol.

Mit dieser Modifikation erzielte Tschernischeff von der Medulla oblongata, z. B. Serienschnitte von 10 μ. Jordan[86]) verwendet für sein Verfahren, Celloidinschnitte fest auf den Objektträger aufzukleben, ebenfalls eine anders hergestellte Celloidinlösung, indem er auf 4 Theile einer gewöhnlichen Celloidinlösung 1 Theil Cedernöl hinzufügt. Der Oelzusatz verringert sich etwas bei der koncentrirten Celloidin-Alkohol-Aetherlösung (bei 8%iger Celloidinlösung soll das Verhältnis wie 5 : 1 sein). Die Methode soll später bei der Besprechung der Schnittserienmethoden ausführlich geschildert werden.

III. Imprägniren der Präparate mit Celloidin und ihre Fertigstellung bis zum Schneiden.

Während Schiefferdecker[57]) in seinen ersten Mittheilungen mit nur zwei verschieden koncentrirten Celloidinlösungen sich begnügt, haben spätere Autoren mit Recht noch eine dritte, ganz dünne Lösung eingeführt.

Die vollkommen entwässerten Präparate können direkt in die dünnste Celloidinlösung gebracht werden, bei zarten Objekten empfiehlt es sich jedoch, dieselben erst ein Alkohol-Aethergemisch zu gleichen Theilen passiren zu lassen. Je dünner die erste Lösung ist, desto schneller wird eine Imbibition erreicht. Es lassen sich natürlich keine genauen Zahlen angeben, wie lange die Präparate in den Celloidinlösungen verweilen müssen, um genügend durchtränkt zu sein, da diese Zeit ausschliesslich von der Grösse und Plasticität des Objekts abhängig ist. Bei Stücken, deren Dicke 5—8 Mm. nicht überschreitet, genügt im allgemeinen der Aufenthalt von 1—2 Tagen in jeder der drei Celloidinlösungen, um eine vollkommene Durchtränkung herbeizuführen; hat man jedoch mehr Zeit, so lasse man die Stücke in der dicken Celloidinlösung länger liegen. Ich habe mich sehr häufig davon überzeugt, dass man auch von schwer schneidbaren Objekten schon nach kurzer Einwirkung von Celloidinlösungen (3—5 Stunden in jeder Lösung) Schnitte von 10—15 μ erhält, wenn die Dicke des zu durchtränkenden Stücks gering ist (nicht über 2 Mm.). Für diagnostische Zwecke ist das so von mir geübte Verfahren der Schnelleinbettung ohne Erwärmung (cf. auch Gilson[30]), das schon nach 24 Stunden brauchbare Schnitte liefert, von nicht zu unterschätzendem Vortheil. Bei Gewebstheilen, die grössere Hohlräume enthalten, kann man nach Schiefferdecker[59]) dieselben an einer Stelle anstechen, um dem Celloidin ein direktes Eindringen in die Hohlräume zu gestatten.

Die Beurtheilung, ob ein Präparat genügend mit Celloidin durchtränkt ist oder nicht, wird immer Sache der Erfahrung bleiben.

Hat man Grund zur Annahme, dass das Gewebsstück mit der dicken Celloidinlösung vollkommen durchtränkt ist, so muss dasselbe eine zum Schneiden passende Konsistenz erhalten. Das schnellste und einfachste, aber keinesfalls beste Verfahren ist, dass man das Präparat aus der dicken Lösung direkt auf einen ganz trockenen Präparatenklotz legt und es demselben mit

einem in 70°/₀igen Alkohol angefeuchteten Finger leicht andrückt. Eine glatte Präparatenfläche begünstigt das Festhaften am Blocke ausserordentlich. Nach wenigen Minuten ist der Celloidinmantel, welcher das Präparat umgiebt, so fest geworden, dass der Eindruck eines Fingernagels stehen bleibt. Jetzt wirft man den Block in 70°/₀igen Alkohol, in welchem das Objekt nach 2 bis 3 Stunden bereits eine schnittfähige Konsistenz erwirbt. Immerhin genügt diese Methode, die in ähnlicher Weise schon in SCHIEFFERDECKER's [57]) erster Publikation niedergelegt ist, meist dem gewöhnlichen Bedürfniss, wenn auch nicht immer eine Blasenbildung im Celloidin verhindert werden kann. Zum Aufkleben der Objekte hat man bisher die von WEIGERT [70]) eingeführten Holzwürfel oder Korkstückchen gebraucht; dieselben geben jedoch im 70°/₀igen Alkohol Gerbsäure und harzige Stoffe ab, welche den Alkohol braun tingiren und die Färbbarkeit der Objekte in ganz erheblicher Weise schädigen können. Man hat diese Unannehmlichkeit damit zu umgehen gesucht. dass man entweder die Celloidinblöcke nach dem Schneiden sofort wieder vom Holzklotz herunternahm und in 70°/₀igem Alkohol konservirte, oder aber die Blöcke eine Sekunde in flüssiges Paraffin von 56—58° Schmelzpunkt tauchte und so einen Paraffinmantel schuf, der das Eindringen des Alkohols und Auslaugen des Holzes verhindern sollte (APÁTHY [2]). Oder man hat die Poren des Holzes vorher durch Auftragen einer dünnen Kollodiumschicht verschlossen (STEPANOW [61]). Wenn man sich jedoch immer der alten, bereits des öfteren der Alkoholwirkung ausgesetzten und ausgelaugten Holzklötzchen bedient. kann man sich überzeugen, dass der Alkohol schliesslich fast gar nicht mehr verfärbt wird, der die Objekte treffende Schaden also auch kein erheblicher sein kann. JELINEK [33]), der ebenfalls solche »alte« Holzblöcke empfohlen hat, führte an Stelle der Holzklötze das in der Elektrotechnik als Isolationsstoff verwendete Stabilit ein; dasselbe stellt eine rothe harte Masse vom spec. Gew. 1,6 dar, sinkt also in Alkohol unter, wird von keiner in der histologischen Technik verwendeten Flüssigkeit angegriffen und hat sich durch diese Eigenschaften sehr bewährt. Bei der einfachen, eben geschilderten Methode hat man das vorläufige Härten des Celloidins durch freien Luftzutritt, das definitive Härten durch 70°/₀igen Alkohol erreicht. Bei den weiteren Verfahren möchte ich diese beiden Processe getrennt besprechen.

A. Methoden der provisorischen Härtung des Celloidins. Ein in kleinen Punkten vielfach modificirtes Verfahren, das den Vorzug besitzt, dass die Celloidinmasse ganz gleichmässig, ohne Einschluss von Luftblasen erstarrt, aber viel längere Zeit beansprucht. besteht darin, dass man die Präparate in ein mit dickem Celloidin gefülltes Schälchen bringt und hier das Celloidin langsam erstarren lässt. Man erreicht dies nach der Vorschrift von SCHIEFFERDECKER [59]) dadurch, dass das die Celloidinlösung enthaltende flache Glasschälchen nicht hermetisch verschlossen, sondern zwischen Deckel und Glas ein Papierstreifen untergeschoben wird (s. auch FLORMANN [26]). Dabei muss man aber fortwährend dem Objekte seine Aufmerksamkeit schenken, damit das Celloidin nicht zu hart wird; ausserdem ist es nothwendig. um auch an den Seitenflächen des Glases das Celloidin langsam konsistenter werden zu lassen, die Celloidinmasse an dem Glase mit einem Messer abzuheben. Die Masse muss so fest sein, dass die Fingerkuppe (nicht der Nageldruck!) keinen Eindruck mehr im Celloidin hinterlässt. Die Verwendung kleiner Papierkästchen. die am einfachsten hergestellt werden durch Umwickelung eines Korkes mit einem den Kork um 1—1½ Cm. überragenden Papierstreifen, wird zum Ausgiessen der Objecte von APÁTHY [4]) als unzweckmässig verworfen. Jedenfalls sind zum Ausgiessen der Einbettungsflüssigkeit die von APÁTHY [3]) empfohlenen Glasdosen recht bequem. APÁTHY geht insofern noch schonender als SCHIEFFERDECKER [59]) vor, indem er die Glasdose auf einige Stunden mit einem Glasdeckel vollkommen hermetisch verschliesst.

Es erlaubt dieses Verfahren auch noch nach einigen Minuten ein nachträgliches Einordnen der Objekte in der Einbettungsmasse, da sich das an der Luft schnell bildende Häutchen in den entweichenden Alkohol-Aetherdämpfen wieder löst. Der Deckel wird dann nach einigen Stunden entfernt und die Glasdose mit einer kleineren Glasglocke bedeckt, so dass die Alkohol-Aetherdämpfe rascher entweichen. Nach 6—24 Stunden ist das Celloidin zur definitiven Härtung fertiggestellt. Elschnig[19]) erreicht einen luftdichten Abschluss der die Präparate enthaltenden Glasschale dadurcb, dass er die die Glasdose bedeckende Platte mit dünner Celloidinlösung bestreicht. Wolff[71]) räth, die Verdunstung in der Weise langsam vorzunehmeu, dass sie die Glasschale, welche die Präparate mit der Einbettungsmasse enthält, durch eine grössere dauernd überdacht hält. Je nach der Grösse der deckenden Schale ist die Verdunstung der Alkohol-Aetherdämpfe, und so das Härten des Celloidins eine verschieden schnelle. Mayer[43]) lüftet die hermetisch schliessende Glasglocke 1—2mal täglich, um neue, nicht mit Alkohol-Aetherdämpfen gesättigte Luft zutreten zu lassen. Heller[31]) bringt zweckmässiger Weise seine auf Korkpapierkästchen frisch aufgeklebten Präparate in eine Schale und setzt diese in eine grössere, hermetisch schliessende. deren Boden mit Spiritus bedeckt ist. Das Celloidin bekommt, ohne mit Alkohol in Berührung zu kommen, nach 24 Stunden den gewünschten Konsistenzgrad. Diese Methode hat den Vorzug. dass ein genaues Ueberwachen der Präparate nicht nothwendig ist. und das Celloidin nie zu hart werden kann. Busse[13]) räth, in gleicher Weise die Präparate Alkohol-Aetherdämpfen für kurze Zeit ($2^1/_2$ Stunden) auszusetzen. damit eventuelle Luftblasen in der Einbettungsmasse nach oben steigen können.

B. Methoden der endgiltigen Härtung, die ein Schneiden des Präparates erlauben. Das meist angewendete Medium ist hier der 50—70%ige Alkohol, welcher schon von Schiefferdecker[59]) zu diesem Zwecke gebraucht worden ist. Versuche, die Busse[14]) angestellt und Lee[43]) bestätigt hat, beweisen jedoch, dass der 85%ige Alkohol der zum Härten geeignetste ist. Dabei bleibt auch das Celloidin am besten durchsichtig, und es wird so die Orientirung über die Präparate erleichtert. Die richtige Konsistenz tritt gewöhnlich erst nach 24 Stunden ein. Nach der Empfehlung von Blum[11]) tritt der gewünschte Härtegrad sehr schnell ein, wenn man dem Alkohol etwas Formol hinzusetzt; eine Angabe, die ich bestätigen kann; auch Friedmann[26]) empfiehlt diesen Formolzusatz.

Mit der Methode der Alkoholhärtung konkurrirt in erster Linie die der Konsistenzerhöhung des Celloidins durch Chloroform, da sie viel schneller zum Ziele führt und das Celloidin durchsichtig macht. Dieselbe wurde zuerst von Viallanes[68]) angegeben, ist von Schiefferdecker[59]) verworfen worden und wird neuerdings wieder von Lee[42]) besonders für kleinere Objekte empfohlen, bei welchen man von der Vorhärtung auch absehen kann, wenn man die in dickem Celloidin liegenden Präparate einige Sekunden bis zur Bildung eines Häutchens an der Luft stehen lässt. Die Härtung in Chloroform, beziehungsweise Chloroformdämpfen ist ausser von Lee[42]) auch von Stepanow[61]) und Jordan[36]) angegeben worden. Letzterer setzt dem Chloroform Cedernöl hinzu (auf 5 Theile Chloroform 1 Theil Cedernöl), ersterer empfiehlt ferner noch eine Mischung von Alkohol und Chloroform (cf. pag. 108). Gilson[30]), der das Celloidin in einem Paraffinbade schnell zum Eindicken bringt, härtet ebenfalls in Chloroform oder in einer Chloroformcedernölmischung.

Bumpus[12]) hellt nach der definitiven Härtung in Chloroform noch mit Thymianöl auf; Eycleshеimer[20]) erreicht eine rasche Härtung mit einer Mischung gleicher Theile von Karbolsäure, Bergamott- und Cedernöl oder einfach mit Glycerin.

FLORMANN [25]) giesst die Celloidinlösung in eine niedrige Glasschale aus und schiebt zwischen dieselbe und den Deckel ein Deckglas, lässt so langsam das Celloidin eindicken, bis die beste Schnittfähigkeit erreicht ist, und schneidet dann ohne nachträgliche Härtung sofort unter 95%igem Alkohol.

IV. Aufkleben der Celloidinblöcke und Aufbewahren derselben.

Hat man das Celloidin in einer genügend hohen Schale ausgegossen, durch Alkohol dann zur Schnittkonsistenz gebracht (SCHIEFFERDECKER), so genügt das überschüssige Celloidinstück, um an den Objektschlitten des Mikrotoms direkt befestigt werden zu können. Anders bei Celloidinblöcken, die nur eine Dicke von wenigen Millimetern haben und in ihrer Dicke vom Präparat ausgefüllt werden. Man muss hier den Celloidinblock auf einen Würfel kleben, der in den Objektschlitten eingespannt wird. Als Material empfiehlt sich weniger Kork oder Holz, da die in ihnen enthaltene Gerbsäure vom Alkohol ausgezogen und das Präparat in seiner Färbbarkeit beeinträchtigt wird, als vielmehr das allerdings theure Stabilit (JELINEK, cf. pag. 110). Das von APÁTHY [3]) empfohlene Hollundermark hat den Nachtheil grosser Zusammendrückbarkeit und verändert beim Einspannen in die Objektklammer seine Form. Die Blöcke haben zweckmässig die Gestalt eines Rechteckes, von dem zwei Seiten circa 1,5 Cm, die dritte Seite 2 Cm. lang ist; bei grösseren Objekten natürlich grösser. Das Aufkleben gestaltet sich je nach der Verwendung der zur definitiven Härtung benützten Flüssigkeiten verschieden. Die in Alkohol gehärteten Celloidinblöcke werden an der betreffenden Fläche durch Fliesspapier ihres Alkohols beraubt und an der Luft kurze Zeit getrocknet. Die getrocknete Celloidinfläche und der ebenfalls ganz trockene, eventuell mit Kollodium vorher überzogene Block (APÁTHY [3]), STEPANOW [61]) wird mit einem Tropfen dickster Celloidinlösung beschickt und auf denselben der Celloidinblock fest angepresst. APÁTHY [3]) empfiehlt, das zur Fixation verwendete, an den Rändern überquellende Celloidin mit einer Nadel sorgfältig abzukratzen, damit das zwischen den Berührungsflächen befindliche Celloidin schnell trocknet. BUSSE [13]) dagegen sieht gerade in diesen überhängenden Rändern ein besonders gutes Fixationsmittel. Nach einigen Minuten kommt das Objekt in Alkohol zurück und kann bald geschnitten werden.

Das aufgeklebte Präparat wird am besten in 75%igem Alkohol aufbewahrt; es hält sich in diesem Medium monatelang und büsst nichts an seiner Schnittfähigkeit ein. FLORMANN [25]) behauptet zwar das Gegentheil, ist aber von APÁTHY [1]) bereits widerlegt worden. Es lassen sich die unaufgeklebten und aufgeklebten Präparate nach APÁTHY's [2]) Vorschlag auch trocken ohne Gefahr des Eintrocknens aufbewahren, indem man das Ganze nach Trocknung mit Löschpapier für eine Sekunde in geschmolzenes Paraffin taucht. Beim Schneiden unter Feuchtigkeit fällt der dünne Paraffinrahmen gewöhnlich ab, oder er kann sofort in Bergamottöl gelöst werden. Eine trockene Aufbewahrung ermöglicht auch das Verfahren von LEE. Die Objekte müssen aber in eine hermetisch schliessende Flasche bis zum Schneiden gebracht werden. Neuerdings empfiehlt APÁTHY [5]) die Celloidinblöcke, die nicht sofort geschnitten werden, folgendermassen aufzuheben. Der Block wird nach der Alkoholhärtung in Wasser abgespült und dann in eine Lösung von Glyceringelatine gelegt, die so koncentrirt sein muss, dass sie bei gewöhnlicher Temperatur erstarrt. Einige Thymolkrystalle, auf die erstarrte, die Präparate einschliessende Gelatine gelegt, verhindern Schimmelbildung. In dieser Masse halten sich die Präparate sehr gut. Wenn man schneiden will, so erwärmt man nach Entfernung des Thymols die Gelatine vorsichtig, nimmt das Präparat heraus und wäscht es in

lauwarmem Wasser ab. Das Schneiden wird ohne nochmalige Alkoholbehandlung sofort unter 95%igem Alkohol vorgenommen.

Um die Präparate zu signiren, hat Apáthy [3]) einen sehr einfachen und bequemen Kunstgriff angegeben. Man schreibt die betreffenden Zeichen mit einem gelben Oelstift auf den Boden derselben Glasschale, in die man das die Objekte enthaltende Celloidin ausgiesst. Hebt man das erstarrte Celloidin aus dem Glase heraus, so hat sich die Schrift auf das Celloidin unverwischbar übertragen. Ganz einfach ist aber auch das Etikettiren der Blöcke, wenn man das mit der Schrift versehene Papierzettelchen durch eine dünne Kollodiumschicht an den Block fixirt.

In manchen Fällen, besonders dann, wenn man zugleich über sehr viele bereits eingebettete und aufgeklebte Präparate eine Uebersicht haben will, empfiehlt sich der von Borrmann [10]) angegebene Kasten zur Aufbewahrung aufgeklebter Celloidinblöcke, welcher eine augenblickliche Orientirung über mehr als 100 Blöcke gestattet. Derselbe ist aus verzinktem Eisenblech hergestellt; Deckel und Rand des Gefässes sind mit Filzstreifen armirt zur möglichsten Verhinderung der Alkoholverdunstung. Ein System von Fächern durch parallel angeordnete Blechstreifen erlaubt es, in einem Rahmen die Blöcke mit dem Präparate nach unten einzuordnen. Heftzwicken (Reissnägel), in welche die Nummern 1—100 eingestanzt sind, werden in die dem aufgeklebten Celloidinblock gegenüberliegende Seite eingedrückt (Stabilit lässt sich dabei nicht verwenden), und so hängen die Präparate, mit ihren Nummern nach oben, im Kasten und können mühelos sofort herausgefunden werden. Der Apparat wird zum Preise von 6 Mark vom Klempnermeister A. Lorenz in Breslau, Grosse Feldstrasse 15b, geliefert.

V. Schneiden der Celloidinpräparate.

Es ist hier nicht der Platz, auf das für die Celloidintechnik zweckmässigste Mikrotom einzugehen. Ich möchte nur erwähnen, dass diejenigen Systeme, bei welchen die Hebung des Objektes durch eine senkrecht stehende Mikrometerschraube geschieht, wie z. B. beim Schanze'schen, leicht unter der dauernden Alkoholbenetzung leiden, wenn nicht nach jedesmaliger Benutzung die Präcisionsschraube aufs sorgfältigste gereinigt wird. Bei den Schlittenmikrotomen von Jung wird die Benetzung der Mikrometerschraube mit Alkohol vermieden.

Als Messer benütze man plankonkav geschliffene, die nicht kürzer als 16 Cm. sein sollen: kleinere Messer sind dementsprechend schwächer und schmäler und können dann leicht federn. Das Messer soll so eingestellt werden, dass möglichst seine ganze Schnittlänge beim Schneiden ausgenützt wird, d. h. also so schräg als möglich.

Man kann mit angefeuchtetem oder trockenem Messer schneiden. Beide Methoden sollen getrennt besprochen werden.

1. Schneiden mit angefeuchtetem Messer. Das älteste und auch weitaus am meisten verbreitete Verfahren ist die Benetzung des Messers und des Celloidinblocks mit Alkohol. Die zu diesem Zwecke angegebene Koncentration schwankt in weiten Grenzen; meist wird jedoch 70%iger Alkohol benützt, Busse [14]) verwendet 85%igen, Flormann [25]) sogar 95%igen, desgleichen Apáthy [5]) bei Präparaten, die er unter Glyceringelatine aufbewahrt hat; cf. pag. 112). Wird das Messer vorher mit gelbem Vaselin bestrichen, so schneidet es nach Apáthy [3]) besser, wird vom Alkohol nicht angegriffen und es tropft nicht so viel überschüssiger Alkohol ab; es bedeutet diese Massnahme also auch eine Ersparniss des Alkohols.

Trotz aller Vorsichtsmassregeln und trotz gediegener Einbettung lassen sich manchmal sebr brüchige Objekte nicht schneiden oder liefern sehr leicht vulnerable Schnitte. Man kann sich dann so helfen, dass man die Schnitt-

fläche des Präparates durch Fliesspapier trocknet, sofort mit einem Pinsel Kollodium aufpinselt, nach wenigen Sekunden wieder mit Alkohol anfeuchtet und dann schneidet. Auf diese Weise lassen sich manchmal auch von schwer schneidbaren Objekten recht dünne Schnitte erzielen. Statt Kollodium hat Apáthy [6]) 1⁰/₀iges Celloidin, Jordan [36]) ½—1⁰/₀iges Celloidin mit Cedernholzöl versetzt (5 Tropfen Oel auf 15 Ccm. Celloidinlösung), empfohlen.

Alle anderen Flüssigkeiten zum Anfeuchten des Messers haben sich wenig eingebürgert. Bei der Jordan'schen Methode (cf. pag. 111) geschieht das Anfeuchten des Messers mittels einer Chloroformcedernölmischung (5 : 1); bei der von Bumpus [12]) mittels Thymianöllösung. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass empfohlen wird von Gage [27]) eine Xylol-Ricinusöllösung (3 : 1), von Eycleshymer [20]) Glycerin oder eine Mischung von Bergamottöl, Cedernöl und Karbolsäure zu gleichen Theilen, von Fish [22]) Thymianöl-Ricinusöl (3 : 1), von Gilson [30]) Cedernöl, endlich von Meyer ebenfalls Glycerin.

Das Anfeuchten des Messers geschieht am einfachsten mit einem Pinsel. Die den Alkohol enthaltende Schale stellt man am besten in die Höhe des Mikrotommessers am freien Ende desselben auf. Natürlich kann man sich auch besonderer Tropfapparate bedienen, wie des Jung'schen, oder des recht einfachen von Bernhard. [9]) Das einfachste und zweckmässigste dieser Art stellt die von Weigert [70]) in die histologische Technik eingeführte Spritzflasche dar, die Weigert (nach einer brieflichen Mittheilung) schon zu einer Zeit zum Anfeuchten des Messers gebrauchte, als die Celloidineinbettung noch gar nicht bekannt war. Das zum Boden führende Glasrohr trägt unten ein nach oben sich öffnendes Quecksilberventil (von Desaga in Heidelberg zu beziehen), ist ausserhalb der Flasche zweimal rechtwinkelig abgeknickt und läuft in eine feine Spitze aus. Am kurzen Glasrohr befestigt man einen Gummischlauch, der, zum Munde geführt, es ermöglicht, dass gerade nur die gewünschte Menge Alkohol aus dem langen Glasrohr auf das Messer fliesst.

Der von Nikiforoff [49]) angegebene kleine Kunstgriff, die Schneide des Messers genau horizontal oder sogar etwas nach rechts geneigt zu stellen durch Erhöhung der vom Arbeitenden aus links gelegenen Seite des Mikrotoms, verdient vielleicht Beachtung, da das lästige Heruntergeschwemmtwerden der Schnitte fortfällt und auch Alkohol gespart wird.

2. Schneiden mit trockenem Messer. Das trockene Verfahren ist zuerst von Lee [42]) eingeführt worden. Die in Chloroformdämpfen gehärteten Objekte (cf. pag. 111) kommenin eine Chloroformcedernölmischung (1 : 1), das Chloroform wird in dieser Lösung nach und nach durch Cedernöl substituirt; das Objekt wird ganz durchsichtig. An der Luft verflüchtigt sich der letzte Rest des Oeles und das Präparat kann dann mit einem Tropfen Kollodium aufgeklebt mit ganz trockenem Messer geschnitten werden, ohne dass zu fürchten wäre, dass die jeweilige frische Schnittfläche austrocknet. Dieses tritt selbst nach Stunden nicht ein. Auch Stepanow's Methode (cf. pag. 108) gestattet ein trockenes Schneiden.

In Celloidin eingebettete Stücke hat man auch zur Erzielung feinerer Schnitte auf dem Gefriermikrotom geschnitten. Meines Wissens hat zuerst Barett [8]) diese Modifikation angegeben. Derselbe geht folgendermassen vor: Der Celloidinblock kommt nach seiner definitiven Härtung in Alkohol auf 6—24 Stunden in Wasser, wird dann in eine Gummilösung getaucht und mit Hilfe derselben auf die Platte des Gefriermikrotoms befestigt. Die Schnitte kommen von dem eventuell durch warmes Wasser erwärmten Messer (falls das Celloidin zu hart gefroren) in warmes Wasser. Auch Stepanow [62]) bediente sich der Gefriermethode für Celloidinpräparate. Er verwendet das von Kühne [39]) empfohlene Anisöl (Anethol, zu beziehen von Schimmel in Leipzig), dessen Schmelzpunkt bei 26⁰ liegt.

Die in Celloidin eingebetteten Präparate kommen — ich schildere hier nur das von STEPANOW[62]) für das am besten gehaltene Verfahren — aus Alkohol in ein Gemisch von 1 Theil Anilinöl und 1—3 Theilen Nelkenöl (je mehr Nelkenöl, desto langsamer hellen sich die Präparate auf). Hierauf Extraktion des Oelgemisches durch Benzol in 1—2 Stunden (einmal wechseln) und Einbettung in Anethol (6—8 Stunden). Mit einem Tropfen Anethol wird der Celloidinblock an den Tisch des Gefriermikrotoms befestigt, zum Gefrieren gebracht und geschnitten. Man erhält so nur halb so dicke Celloidinschnitte wie beim gewöhnlichen Schneiden (bis zu 2,5 μ Dicke).

Nur noch Einiges über die Einstellung der Objekte beim Schneiden und über die Vorschläge zur Orientirung. — Man war bisher gewöhnt, Celloidinpräparate im Mikrotom beim Schneiden in einer gewünschten Ebene nach dem Augenmass einzustellen. Ein hier nicht näher zu beschreibender Apparat von FRIEDMANN[26]) (hergestellt von St. Dumler, Wien, IX/3) ermöglicht in kurzer Zeit eine genaueste Horizontalstellung des Messers und der bestimmten Objektebene, so dass die gewünschte Objekt- und Messerebene übereinstimmen.

APÁTHY[2 u. 3]) giebt an, um das Ordnen ungefärbter oder sehr kleiner in Celloidin eingebetteter Schnitte zu erleichtern, dem zur Aufhellung der Schnitte benützten Bergamottöl einige Tropfen alkoholischer Safraninlösung hinzuzufügen, die Lösung aber vor dem Gebrauch zu filtriren. Das Celloidin färbt sich dann in wenigen Sekunden rosaroth, der Schnitt selbst bleibt ungefärbt und ist besser wahrnehmbar. Eine leichte Tinktion des Celloidins erreicht man auch durch Versetzen des noch flüssigen Celloidins mit wenigen Tropfen alkoholischer Pikrinsäure- oder Karminlösung. Auch hier färbt sich das Präparat nur minimal mit. Es heben sich dann im Präparate die Konturen des Celloidinrahmens gut ab.

VI. Vorgehen beim Färben und Einschliessen der Celloidinschnitte.

Einleitend haben wir bereits als ganz besonderen Vorzug der Celloidineinbettung hervorgehoben, dass das Celloidin sich nicht mitfärbt oder leicht den Farbstoff bei der Weiterbehandlung des Schnittes abgiebt. Wir können also für gewöhnlich den Schnitt unaufgeklebt, für sich allein, den verschiedensten Färbemethoden aussetzen. Er ist vollkommen widerstandsfähig und kann mit Leichtigkeit mit einer Nadel (am besten aus Glas) von einem flüssigen Medium ins andere übertragen werden. Gewisse Farbstoffe färben jedoch das Celloidin so intensiv mit, dass eine vorherige Entfernung des Celloidins eine absolute Nothwendigkeit ist. Es geschieht dies am besten durch Uebertragen des Schnittes in eine Alkoholäthermischung zu gleichen Theilen. Man kann natürlich auch, wie FLEMMING[23]) angiebt, die Schnitte zuerst färben, dann in Bergamottöl übertragen und durch Absaugen dieses Oeles und öfteres Hinzusetzen von Nelkenöl das Celloidin entfernen. Für gewöhnlich behält der Schnitt, wenn das Gewebe nicht zu brüchig ist, soweit seine Konsistenz, dass er noch den nothwendigen Manipulationen, ohne aufgeklebt zu sein, unterworfen werden kann. Fürchtet man jedoch ein Zerfallen des Schnittes, so kann man nach JORDAN's[34]) Angaben (vergl. JORDAN's Schnittserienmethode) die Schnitte vor der Färbung auf den Objektträger mit Eiweiss nach P. MAYER[45]) aufkleben und ohne Gefahr das Celloidin nachträglich aus den Schnitten entfernen.

Das Einschliessen der Schnitte kann in Glycerin, wie dies schon von DUVAL[18]), dem Entdecker der geschilderten Einbettungsmethode, geschehen ist, oder in Balsam vorgenommen werden. Beide Medien hellen das Celloidin in vollständiger Weise auf. Da sich Glycerin sowohl mit Wasser als auch mit Alkohol in allen Mengenverhältnissen mischt, so kann der Schnitt direkt von einer der Flüssigkeiten in Glycerin gebracht und eingeschlossen werden.

Beim Einschliessen in Balsam dagegen muss der Schnitt vollkommen entwässert sein. Da absoluter Alkohol das Celloidin löst, so kann die Entwässerung nur in 96%igem Alkohol vorgenommen werden (SCHIEFFERDECKER [57]). Um dem Schnitt den Rest des Wassers ohne Auflösung des Celloidins zu nehmen, sind die verschiedensten Flüssigkeiten angegeben worden. SCHIEFFERDECKER [57]) verwendet Bergamottöl, Sandelholzöl oder Origanumöl, besonders aber Ol. Origan. cretici; letzteres ist auch von VAN GIESON [29]) als das beste Aufhellungsmittel empfohlen worden. Von ätherischen Oelen sind ferner zu diesem Zwecke empfohlen worden: Eine Mischung von Thymianöl 4 Theile, Nelkenöl 1 Theil (DUNHAM) [17]); 3 Theile Thymianöl und 1 Theil Ricinusöl (FISH [22]); Ol. Linaloes (JORDAN [34]). Ganz unbrauchbar ist das Nelkenöl, worauf schon SCHIEFFERDECKER aufmerksam macht; nicht zu empfehlen ist Ol. cajeputi (JORDAN [35]).

Von Benzolderivaten ist zuerst das Dimethylbenzol (Xylol) von WEIGERT empfohlen worden; derselbe zog dann das von FLESCH [24]) eingeführte Kreosol (zweiwerthiges Phenol) vor. Bald gab WEIGERT [69]) die vorzügliche Mischung von reiner krystallinischer Karbolsäure (1 Theil) und Xylol (3 Theile) an, deren Anwendung nur bei Färbung mit basischen Farbstoffen kontraindicirt ist. Zum Ersatz empfahl er hier Anilinöl in Mischung mit Xylol (1:2). Von einwerthigen Phenolen sollen nach MARPMANN [43a]) auch das Carvol, Carvacrol (in Origanumöl enthalten) und Concol brauchbar sein. Von dem gleichen Autor wird eine Lösung von 1 Theil Ol. Terebinth. und 5 Theilen Carvacrol bevorzugt. NIKIFOROFF verwendet ein Alkohol-Chloroformgemisch zu gleichen Theilen. Endlich hat SOUZA [60]) das Pyridin (mit Xylol) zur Aufhellung eingeführt.

Erwähnen möchte ich auch, dass man überhaupt alle Aufhellungsmittel entbehren kann, wenn man sich der von W. H. WELCH im Jahre 1876 erfundenen und von WEIGERT wieder aufgenommenen Abtupfungsmethode mittels Filtrierpapier bedient. Man geht nach dieser sehr zu empfehlenden Methode folgendermassen vor. Der vorbehandelte Schnitt kommt aus dem 96%igen Alkohol mittels Spatel auf den gut gereinigten Objektträger, etwaige Falten im Präparate werden beseitigt. Zum Abtrocknen benützt man eine 4—8fache Lage Fliesspapier, ungefähr in der Grösse unserer Korrespondenzkarten. Es ist wichtig, dass die Fliesspapierlage glatt und faltenlos ist. Man legt dieselbe auf den Objektträger und macht, während man sie mit der linken Hand fixirt, mit der zur Faust zusammengelegten Rechten 2—3 wischende Bewegungen. Nach dem Abnehmen des Papiers liegt der Schnitt vollkommen glatt angeschmiegt dem Objektträger an. Aus einer Tropfflasche mit ein geschliffener Pipette bringt man auf den trockenen Schnitt ein paar Tropfen Xylol und tupft ab; wiederholt man diese Procedur des Auftropfens und Abtupfens noch 1—2mal, dann ist das Präparat ohne besondere Aufhellungsmittel vollkommen wasserfrei und kann sofort in Balsam eingeschlossen werden.

Photoxylin, Kolloxylin und Celloidinum inelasticum.

Photoxylin, ein dem Celloidin chemisch ganz nahe stehender Körper, ist zuerst von KRYSINSKI [38]) in die histologische Technik eingeführt worden. Es hat im trockenen Zustande das Aussehen von Wundwatte, lässt sich so unbegrenzt lange aufbewahren und stellt in Alkoholäthergemisch zu gleichen Theilen gelöst eine durchsichtige klare Lösung dar.

KRYSINSKI verwendet eine dünne, circa ½-1%ige Lösung und eine dicke von circa 5%.

Die Behandlung der in Photoxylin eingebetteten Objekte ist genau dieselbe wie beim Celloidin.

Photoxylin hat jedoch den Vorzug, dass es auch nach der Erstarrung bis zur Schnittkonsistenz in 70%igem Alkohol vollkommen durchsichtig

bleibt; ein Vortheil, den man bei Celloidin, mit der Alkoholhärtung wenigstens, nicht erreicht.

Weiterhin ist das Photoxylin wegen seiner vollkommenen Durchsichtigkeit von BUSSE [15]) empfohlen worden. Ebenso rühmt es MITROPHANOW [47 u. 48]), nach welchem es auch den Vorzug einer besseren Schnittfähigkeit haben soll Letzterer verwendet 4 Lösungen von 0,5, 1,5, 3 und 5%. Bei der kombinirten Paraffin- und Celloidineinbettung (s. unten) verwenden KONCEWICZ [37]), SABUSSOW [54]), MITROPHANOW [48]) und PRSHESMYSKI [51]) ebenfalls an Stelle von Celloidin das Photoxylin. Statt Celloidin gebraucht TSCHERNISCHEFF [64]) bei dem von ihm modificirten STEPANOW'schen Verfahren Kolloxylin, das den Vortheil leichter Löslichkeit haben soll. (Cf. pag. 109.)

Um die Elasticität des Celloidins, durch welche der Celloidinblock bei feiner Einstellung der Mikrotomschraube dem Messer gern ausweicht, herabzusetzen, hat es UNNA [66]) mit verschiedenen Zusätzen versucht, als deren bester sich das Ricinusöl erwiesen hat. Aehnlich günstig zeigte sich ein Zusatz von Terpentinöl oder stearinsaurem Natron. Diese Verbesserung, welche sich nach UNNA für schwierig zu schneidende Hautstücke, insbesondere für die meist recht brüchige senile Haut bereits bewährt hat, wird es vielleicht ermöglichen, überhaupt von allen Objekten feinere Schnitte herzustellen, als es bisher gelang. Das neue Celloidin, welches unter dem Namen Celloidinum inelasticum (ricinatum, terebinthinatum, saponatum) von der chemischen Fabrik auf Aktien (vorm. E. SCHERING), Berlin, bereits in den Handel gebracht wird, enthält je 2% der betreffenden Zusätze.

Kombinirte Einbettungsmethoden.

Um die Mängel des Celloidins, das nur schwer ganz feine Schnitte gewinnen lässt, und des Paraffins, welches durch seine Brüchigkeit leicht zerfallende Schnitte liefert, zu beseitigen, hat KULTSCHIZKY [40]) beide Methoden miteinander kombinirt. Nach GARBINI [28]) ist dieses Verfahren schon vorher von HEIDER geübt worden. Der Vorgang der Einbettung gestaltet sich nach KULTSCHITZKY folgendermassen:

Das entwässerte Objekt kommt auf einige Stunden in eine Lösung von Alkoholäther zu gleichen Theilen, dann auf 24 Stunden in eine beliebig koncentrirte Celloidinlösung, aus dieser in Origanumöl, hierauf in eine Mischung von Paraffin und Origanumöl, welche nicht höher als auf 40° erwärmt werden darf, und endlich in geschmolzenes Paraffin.

Diese Einbettung vereinigt die Vorzüge der Celloidin- und Paraffineinbettung, man erhält feine Schnitte von guter Konsistenz, kann das Präparat trocken aufbewahren und ohne Alkoholanfeuchtung schneiden.

RYDER [53]) brachte bei der KULTSCHIZKY'schen Methode eine kleine Modifikation an, indem er an Stelle des Origanumöls zur Aufhellung Chloroform anwandte.

IDE [32]) schliesst das Präparat nach dem GILSON'schen Verfahren in Kollodium ein, kocht dasselbe in einem Reagensglas 40 Minuten lang, bringt es auf 1/4 Stunde in eine auf 30° C. erwärmte Chloroform-Paraffinmischung (3 : 1) und endlich auf 10 Minuten in reines geschmolzenes Paraffin. FIELD und MARTIN [21]), welchen die KULTSCHIZKY'sche Methode nichts Befriedigendes leistete, die durch den plötzlichen Uebergang von Celloidin ins Paraffin ungleiche Kontraktionen zwischen Centrum und Peripherie des Präparates und Schrumpfungen sahen, glauben diese Fehler durch ein Verfahren zu beseitigen, bei dem zu gleicher Zeit die Einbettung in Paraffin und Celloidin erfolgt. Sie geben für ihre Methode folgende Vorschriften: das vollkommen entwässerte Objekt kommt in eine Alkohol-Toluollösung zu gleichen Theilen. Nach einigen Stunden wird es in eine in Alkohol-Toluol zu gleichen Theilen gelöste Mischung von Paraffin und Celloidin gebracht. Zur Herstellung dieser

Mischung wird ganz getrocknetes Celloidin mit wenig Toluol durchtränkt, dann mit soviel vorher bereiteter Alkohol-Toluolmischung zu gleichen Theilen versetzt, dass die Celloidinlösung die Konsistenz des Nelkenöls erhält. Zu dieser werden nach und nach Stückchen von Paraffin hinzugefügt, bis die Mischung bei 20—25° eine gesättigte Paraffinlösung darstellt. Die Lösung des Paraffins geht sehr langsam vor sich.

Die Paraffineinbettung nehmen die Autoren entweder nach BÜTSCHLI [16]) so vor, dass sie das mit ihrer Celloidin-Paraffinmischung durchtränkte Objekt in eine bei 33° gesättigte Chloroform-Paraffinmischung legen, oder durch allmähliches Hinzufügen von reinem Paraffin zu dem Gemisch, indem sie die Lösung bei mässiger Wärme erstarren lassen. Bei der weiteren Behandlung hüte man sich vor celloidinlösenden Reagentien, wie Nelkenöl; im übrigen verfahre man wie bei gewöhnlicher Paraffineinbettung.

Schneidet man Serien, so sollen dieselben in einem Zuge fertig gestellt werden, da durch weitere Verdunstung, über Nacht, das Resultat beeinträchtigt werden kann. Von der ursprünglichen Methode weniger different ist die von MARTIN [44]) angegebene 2. Methode, die auch mit getrennter Paraffin- und Celloidinlösung arbeitet. Das Objekt kommt zuerst in eine Mischung von Celloidin und Kampher, dann in eine gesättigte Kampher-Chloroformlösung und schliesslich in reines Paraffin.

SAMASSA [55]) empfiehlt ebenfalls die FIELD-MARTIN'sche Methode der gleichzeitigen Durchtränkung mit Celloidin und Paraffin. Derselbe handhabt sie in etwas modificirter Form. Die entwässerten Objekte kommen in eine Lösung, die aus 2 Theilen Toluol, 1 Theil absoluten Alkohol und 1 Theil Schwefeläther besteht.

Die gleiche Mischung wird verwendet zur Lösung des Paraffins und Celloidins, die bis zur Sättigung der Lösung hinzugefügt werden. (SAMASSA hält den Zusatz von Aether für nothwendig, weil bei dem FIELD-MARTIN'schen Lösungsmittel das Celloidin nur aufquelle.) Die Objekte bleiben 24 Stunden in dieser Lösung, kommen dann auf eine Glasplatte und werden dort 1/2 Stunde lang bis zur Bildung eines Celloidinhäutchens lufttrocken gemacht. Das Ganze kommt dann in Petroleumäther, welcher billiger ist und das Celloidin nicht so stark härtet, wie das von FIELD-MARTIN angegebene Chloroform. Nach kurzer Zeit erstarrt die Einbettungsmasse, sie wird jetzt vom Glas abgelöst und verbleibt auf 24 Stunden im Petroleumäther. In Paraffinöl eingelegt, hellt sich die Einbettungsmasse so auf, dass das Objekt sogar unter dem Mikroskop betrachtet werden kann und in vorzüglicher Weise nachträglich Orientirungen gestattet. In Paraffinöl können die Objekte beliebig lange verweilen, aus demselben werden sie direkt in reines Paraffin eingebettet.

KONCEWICZ [37]) giebt folgende Methode an:

Das entwässerte Präparat kommt in eine 0,5—1,5%ige Photoxylinlösung, dann in Origanumöl und wird in reines Paraffin eingebettet. Er erwartet von der Anwendung einer so dünnen Photoxylinlösung ein schnelleres Eindringen derselben und eine bessere Durchtränkung mit dem nachfolgenden Paraffin.

Auch SABUSSOW [54]) giebt der Photoxylin-Paraffinmethode den Vorzug vor der einfachen Paraffinmethode, weil das in Photoxylin eingebettete Objekt leichter eine Orientirung gestattet und ein Reissen der gleichmässig konsistenten Schnitte nicht eintritt. Er handhabt das Verfahren folgendermassen:

1. Härtung der Objekte in 95%igem Alkohol.

2. Je 24stündiges Verweilen in einer 0,5- und 5%igen Lösung von Photoxylin in 95%igem Alkohol und Aether zu gleichen Theilen.

3. Erhärten des Objektes in einem Tropfen 5%iger Photoxylinlösung unter Chloroform (24 Stunden lang).

4. Wegschneiden des überschüssigen Photoxylins.

5. Erwärmen des Photoxylinblockes je 1 Stunde in einer Chloroformparaffinmischung und reinem Paraffin.

6. Definitive Einbettung nach der gewöhnlichen Paraffinmethode.

Mitrophanow[48]) durchtränkt je nach der Grösse die entwässerten Objekte 1—3 Tage lang in 0,5- und 1%iger Photoxylinlösung, befestigt mit einem Tropfen der 1%igen Lösung das Objekt an einem Objektträger und härtet dasselbe nach oberflächlichem Festerwerden des Photoxylins in 70%igem Alkohol. Nach Zurechtschneiden des Blockes wird derselbe in 95%igem Alkohol entwässert, mit Origanum- oder Bergamottöl durchtränkt und in Paraffin (von 48—52° Schmelzpunkt) eingeschlossen.

Auch Prshesmyski[51]) bedient sich einer (von ihm etwas modificirten) gemischten Einbettungsmethode. Er wendet ebenfalls das durchsichtige Photoxylin an, um bei kleinen Objekten (Infusorien) dieselben an eine Stelle zusammenbringen zu können und nichts vom Material zu verlieren. Er bringt die entwässerten Präparate auf 24 Stunden in eine 0,5%ige Photoxylinlösung, mischt sie dann mit derselben Menge einer 1,5%igen Lösung. Nach weiteren 24 Stunden werden die Präparate mit dieser Lösung auf einen ausgehöhlten Objektträger ausgegossen. Hat sich an der Luft ein leichtes Photoxylinhäutchen gebildet, so wird der Objektträger zur definitiven Härtung des Photoxylins in 70%igen Alkohol gebracht. Nach einiger Zeit legt man das die Infusorien einschliessende Photoxylinhäutchen in 90%igen Alkohol auf 2 Stunden, dann in eine Mischung von 90%igem und absolutem Alkohol zu gleichen Theilen auf 1—1½ Stunden und endlich in Origanumöl, das nach 1½ Stunden durch frisches ersetzt wird. Jetzt setzt man Paraffin hinzu und lässt in dieser Mischung die Objekte 4—5 Tage im Thermostaten stehen, worauf man die gewöhnliche Paraffineinbettung vornimmt.

Bedient man sich zum Einbetten der von Stepanow angegebenen Celloidinlösung (cf. pag. 108), so ist man in 48 Stunden im Stande, Objekte in Celloidin-Paraffin eingebettet, schnittfertig zu machen.

Die betreffenden Präparate werden einfach aus Benzol in eine Benzolparaffinmischung und dann in reines Paraffin übertragen.

Jordan[36]) verwendet für die doppelte Einbettung die von ihm angegebene Celloidincedernholzölmischung (4 Theile einer 2—3%igen Celloidinlösung, 1 Theil Cedernholzöl). Nach Durchtränkung mit dieser Lösung werden die Objekte in eine mehrmals zu wechselnde Chloroform-Cedernholzölmischung (4:1 Volumtheile) gelegt. Hieraus kommen sie in eine auf 30° erwärmte Mischung von Paraffin und Chloroform (oder Benzol) mit einigen Tropfen Cedernholzöl, schliesslich in reines Paraffin, das öfter zu wechseln ist. Nimmt man nur 2%ige Celloidinlösung, so bleibt die Einbettungsmasse weicher; soll das Objekt weicher bleiben, so empfiehlt es sich, die Paraffindurchtränkung im wesentlichen in der Benzolmischung bei 30° vor sich gehen zu lassen.

Bindegewebsreiche Objekte, welche durch die bei diesem Verfahren nothwendigen höheren Temperaturen leicht für das Schneiden zu hart werden, bettet Jordan ohne Anwendung hoher Wärmegrade ein, indem er die in Celloidin-Cedernholzölmischung eingebetteten Präparate nach ihrer Durchtränkung mit Chloroform-Cedernöl in eine möglichst koncentrirte Lösung von Paraffin (von 50° C. Schmelzpunkt) in Benzol (oder Toluol), der wenige Tropfen Cedernholzöl zugesetzt sind, bringt. Man lässt die Objekte bei 30° in dieser Lösung zuerst in einem verschlossenen Gefässe liegen und dann das Benzol (beziehungsweise Toluol) langsam verdunsten. Bei breiartiger Konsistenz der Mischung wird der Celloidinblock herausgenommen, so dass noch der letzte Rest des Benzols verdunsten kann. Das Objekt wird endlich 1 Tag offen bei Zimmertemperatur, 5 Tage bis 1 Woche in einer Schublade getrocknet; gewöhnlich ist aber das Objekt nach 2 Tagen schon schnittfertig.

Unter Umständen scheint die Umwandlung eines Paraffinschnittes in einen Celloidinschnitt geboten.

STRASSER[63]) giebt hiefür folgende, allerdings recht knappe Angaben: der mit Gummi-Glycerin auf Papier festgeklebte Schnitt kommt:

1. eine Stunde in Xylol, nach Verdunstung desselben
2. $^1/_2$—1 Stunde in 95%igen Alkohol und wird
3. zweimal mit Kollodium simplex oder einmal mit Kollodium duplex kollodinirt.

Litteratur: [1]) APÁTHY (Mit. zool. St. Neapel, Bd. 7, 1887), [2]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [3]) derselbe (ebenda, Bd. 6, 1889), [4]) derselbe (ebenda, Bd. 6, 1889), [5]) derselbe (Mit. zool. St. Neapel, Bd. 12. 1897.), [6]) derselbe (Mikrotechnik d. thier. Morphol. 1. Abth. 1896, pag. 123), [7]) BARETT (Quart. Journ. Micr. Sc. N. S., Bd. 26, pag. 607), [8]) derselbe (Journ. of Anat. Phys. Bd. 19), [9]) BERNHARD (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [10]) BORRMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [11]) BLUM (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), [12]) BUMPUS (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [13]) BUSSE (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [14]) derselbe (ebenda, Bd. 9, 1892), [15]) derselbe (ebenda pag. 47), [16]) BÜTSCHLI (Biol. Centr. 1881), [17]) DUNHAM (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [18]) DUVAL (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 15, 1879), [19]) ELSCHNIG (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [20]) EYCLESHYMER (Amer. Natur., Bd. 26, 1892), [21]) FIELD-MARTIN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [22]) FISH (Proc. Amer. Mikr. Soc., Bd. 15, 1893, [23]) FLEMMING (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [24]) FLESCH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [25]) FLORMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), [26]) FRIEDMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), [27]) GAGE (Trans. Amer. Mikr. Soc., Bd. 17, 1896), [28]) GARBINI (Manuale Tecn. Mod. Mikr., Veroda 1885, pag. 81), [29]) VAN GIESON (Monthly Micr. Journ., Bd. 8), [30]) GILSON (Cellule, Bd. 6, 1890), [31]) HELLER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), [32]) IDE (Cellule, Bd. 7, 1891 und Bd. 8, 1892), [33]) JELINEK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [34]) JORDAN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [35]) derselbe (ebenda, Bd. 16, 1899), [36]) derselbe (ebenda, Bd. 17, 1900), [37]) KONCEWICZ (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), [38]) KRYSIŃSKY (VIRCH. Arch., Bd. 108, 1887), [39]) KÜHNE (Centr. Bakt., Bd. 12, 1892), [40]) KULTSCHITZKY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [41]) LATTEUX (Manuel de technique micros. 1. Aufl., pag. 236), [42]) LEE (Vademecum, 4. Edit., pag. 111, 1896), [43]) LEE und MAYER (Grundzüge, II. Aufl., 1901), [44]) MARTIN (cf. FIELD u. MARTIN), [45]) MAYER (Mit. zool. St. Neapel Bd. 4, 1883), [46]) MEYER (Biol. Centr., Bd. 10, 1890), [47]) MITROPHANOW (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [48]) derselbe (Arch. Zool. expér., [3] Bd. 3, 1886), [49]) NIKIFOROFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [50]) POKROWSKI (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [51]) PRSHESMYSKI (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [52]) ROLLETT (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [53]) RYDER (Journ. R. Micr. Soc. [2], Bd. 8, 1888), [54]) SABUSSOW (Mit. zool. St. Neapel, Bd. 12, 1896), [55]) SAMASSA (Arch. Entwickel., Bd. 7, 1898), [56]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892), [57]) SCHIEFFERDECKER (Arch. Anat., 1882), [58]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [59]) derselbe (ebenda, Bd. 5, 1888), [60]) SOUZA (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [61]) STEPANOW (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [62]) derselbe (ebenda), [63]) STRASSER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), [64]) TSCHERNISCHEFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [65]) TUBBY (Nature, Bd. 47, 1892), [66]) UNNA (Mon. prakt. Dermat., Bd. 30, 1900), [67]) derselbe (ebenda), [68]) VIALLANES (Ann. Sc. N. 6, Bd. 14, 1883), [69]) WEIGERT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [70]) derselbe (Ergebn. Anat., Bd. 3, 1893), [71]) WOLFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899). *Helbing*, Berlin.

Cellulose siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Centralkörper siehe Centrosomen.

Centralnervensystem siehe Nerven und Nervenzellen.

Centrosomen. Zur Darstellung der Centrosomen in den verschiedenen Zellarten empfiehlt sich vor allem die HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylinfärbung (siehe dort) entweder mit Vorfärbung in Bordeaux R oder mit Nachfärbung in Rubin S. Sie dürfte an mit Sublimat oder Sublimatgemischen fixirten Präparaten in dieser Beziehung wohl den ersten Rang einnehmen. Mit dieser Methode ist es HEIDENHAIN selbst, dann ZIMMERMANN, v. LENHOSSÉK, v. KOSTANECKI und anderen gelungen, die Centrosomen in fast allen Gewebszellen darzustellen.

Mit ihr rivalisiren kann eigentlich nur noch die von FLEMMING und HERMANN vor allem ausgebildete Dreifachfärbung Safranin-Gentianaviolett-Orange nach Fixation in den betreffenden Osmiumgemischen.

Von anderen Osmiumgemischen empfehlen sich dann noch die verschiedenen VOM RATH'schen Gemische zur Darstellung der Centrosomen

Auch die EHRLICH-BIONDI'sche Dreifachfärbung giebt an geeignetem mit Sublimat fixirtem Material häufig sehr gute Resultate. Sonderbarer Weise erhält man hier oft die schönste und distinkteste Färbung von Centrosoma und Sphäre, wenn man der mit Essigsäure schwach angesäuerten Farblösung minimale Spuren von Osmiumsäure zusetzt (1—2 Tropfen einer 2%igen Lösung auf 100 Ccm. der fertigen Farblösung).

Centrosomen in Pflanzenzellen. Der Nachweis von Centrosomen ist bisher nur bei niederen Pflanzen gelungen, bei Braunalgen (Phaeophycaceen): Scheitelzelle von Sphacellaria und besonders schön von Dictyota- (MOTTIER) und jungen Keimpflanzen von Fucus (STRASBURGER) und bei Lebermoosen: Sporenmutterzellen und keimende Sporen von Aneura, Pellia, Fegatella (FARMER), bei letzteren nur im Monasterstadium deutlich. Fixirung mit FLEMMING'S starkem Gemisch (für Meeresalgen 1/2 und 1/2 Seewasser) oder mit HERMANN (nicht für Meeresalgen) Färbung mit Flemming Dreifarben. Auch nach HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylinmethode gelingt der Nachweis, jedoch hier viel besser nach Fixirung mit Sublimatgemischen. Das centrosomenartige, zur Centralspindel auswachsende Organ der Diatomeen (Surirella) wird nach Fixirung mit Flemming und sehr vorsichtiger Härtung in Alkohol nach der HENNEGUY'schen Methode (Journ. de l'Anat. Phys. 27, 1891) zur Darstellung gebracht. Die Diatomeen werden 10 Minuten in 2%igem Kalibichromat und 5 Minuten in 1%iger Lösung hypermangansauren Kalis gebeizt und in alkoholischer Saffraninlösung bis zur völligen Ueberfärbung (im Innern gänzlich roth) gefärbt, was meist in kürzerer Zeit eintritt. Mit Nelkenöl wird unter dem Mikroskop ausgewaschen und differenzirt, bis nur noch die Centrosomen (und Nukleolen) intensiv roth, während Kerngerüst und Plasma viel schwächer tingirt bleibt (LAUTERBORN). Ob bei höheren Pflanzen Centrosomen auftreten, ist viel umstritten; während GUIGNARD zumeist mit seinem Chromsäureeisenchloridessigsäuregemisch (s. Chromsäuregemische), aber auch ebensogut mit Flemming, zumal bei Wasserpflanzen (Nymphaea), individualisirte Centrosomen erhalten haben will, bestreitet STRASBURGER ebenso energisch ihr Auftreten auf Grund zahlreicher mit allen möglichen Methoden und Färbungen angestellter Untersuchungen, wenn er auch gewisse aktivirte Kinoplasmamassen während der Karyokinese zugiebt. FISCHER leugnet überhaupt die Existenz von Centrosomen.

Es ist davor zu warnen, häufiger an den Spindelpolen sich theilender Zellen höherer Pflanzen auftretende grössere oder kleinere, oft schön kugelige und auch manchmal von Strahlen umgebene Gebilde für Centrosomen anzusehen (z. B. Wurzelspitzen von Mais-Zea mays, Zwiebel-Allium Cepa, Hibiscus). Sie sind vielmehr nach ihrem Verhalten gegen Farbe und ihrer Entstehungsweise sicherlich Nukleolen, die auch künstlich durch Temperaturerniedrigung hervorzurufen respektive zu verstärken sind (NEMEC).

Centrosomähnliche Gebilde sind als Blepharoplasten oder Cilienbildner in den spermatogenen Zellen 1. der Gefässkryptogamen und niederen Gymnospermen beschrieben worden (1. Chara, Marsilia, Onoclea, Filicinen, Equisetum, 2. Gingko, Cycas, Zamia). Sie treten zuerst, und zwar meist direkt an den Spindelpolen in den Grossmutterzellen (oder einer noch früheren Generation) der Spermatozoen auf und bilden sich direkt oder, nachdem sie bei der Theilung wieder verschwunden, in die Spermatozoencilien um. Besonders günstig ist der Nachweis bei Marsilia. In den von Mikrosporokarpien umschlossenen Mikrosporangien keimen die Mikrosporen im Wasser bei einer Temperatur von 18° im Laufe von 8—10 Stunden zu Prothallien mit Spermatozoen aus. Zur Untersuchung werden dann die Mikrosporangien im ganzen von ihrem gelatinösen Ring abgeschnitten und in Hermann fixirt. Nach Aufhellung mit Wasserstoffsuperoxyd werden die Mikrotomschnitte mit HEIDENHAIN'S Eisenhämatoxylin behandelt und zeigen in allen Stadien der Spermatogenese die Blepharoplasten mit den ihnen anhaftenden achromatischen Fasern (BELAJEFF).

Litteratur: STRASBURGER (Gr. bot. Prakt., pag. 612), dort weitere Litt., und MOTTIER (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1898). Ueber die centrosomenartigen Körper der Pilze vergl. Litt. Ascomyceten: HARPER (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 30, 1897), Basidiomyceten: JUEL (Jahrb. wiss. Bot. Bd. 32, 1899), LAUTERBORN (Unters. über Bau, Kerntheilung und Bewegung der Diatomeen, Leipzig, Engelmann, 1896), GUIGNARD (Ann. d. sc. nat. 8. sér. 6, 1897), FISCHER (Fixirung etc.), STRASBURGER (Ueber Reductionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und

Cilienbildner im Pflanzenreich, Jena 1900, pag. 156—177. Dort auch gesammte Litteratur), Nemec (Sitz. kgl. böhm. Ges. Wiss., 1899, und Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. 19, 1901), Belajeff (Ber. d. deutsch. Bot. Ges., Bd. 18, 1900), Strasburger (l. c.), Herbert J. Webber (U. S. Depart. of Agric. Br. of Plant. Industry Bull. Nr. 2, 1901). *Magnus,* Berlin.

Cephalopoden siehe Mollusken.

Cercarien siehe Parasiten, thierische.

Cerasinroth, Syn. für Sudan III.

Cerise. Unter diesem Namen kommen Farbstoffe in den Handel, welche im wesentlichen durch Phosphin verunreinigtes Fuchsin darstellen (Ludwigshafen, Casella, Kalle).

Cestoden siehe Würmer.

Chabry's Apparat siehe Experimentell-embryologische Methode.

Chaetopoden siehe Würmer.

Characäen. Ueber Lebendbeobachtung von Nitella vergl. Plasmaströmung, über Kultur vergl Algen, Kultur der.

Nitella enthält in jeder Internodialzelle ausser den Zellkernen mit ihnen leicht zu verwechselnde Eiweisskörper (Stachelkugeln), die im Strom mit herumgeführt werden. Legt man N. in äusserst verdünnte Methylenblaulösung, so speichern die Kugeln die Farbe auf, ohne dass das Plasma sonst geschädigt würde.

Die zahlreichen Zellkerne der N.- und Charainternodien entstehen durch amitotische Theilung der mitotisch entstandenen Einzelkerne der Glieder- und Embryonalzellen. Fixirt werden die Characäen in Flemming circa 24 Stunden lang, auch mit Rath'schem Gemisch 1 : 10 in Wasser 10 Minuten lang und zur Entkalkung 12 Stunden in $1^0/_0$iger Essigsäure. Da das Paraffin sehr schwer eindringt, zumal in die Eiknospe, so müssen sie oft 8—14 Tage in demselben bleiben. Zur Färbung ist Flemming's Dreifarbengemisch am geeignetsten.

Litteratur: Overton (Bot. Centr., Bd. 44, 1890), Götz (Bot. Zeit., Bd. 57, 1899). *Magnus,* Berlin.

Chiasma siehe Sehorgan.

Chinablau, ein lösliches Anilinblau (Berlin, Elberfeld). Schöne, kupferglänzende Krystalle, in Wasser ziemlich leicht löslich, in Alkohol ganz unlöslich, in Schwefelsäure mit rothbrauner, in Salz- oder Essigsäure mit blauer Farbe löslich. Mit Natronlauge Rothfärbung.

Chinablau ist von Galli zur Färbung des Neurokeratins empfohlen worden. Die Nerven kommen für 18—20 Tage in Müller'sche Lösung, werden dann zerkleinert und noch für zwei Tage in verdünnte Müller'sche Lösung (1 : 2 Wasser) eingelegt, dann kann man sie noch etwas zerzupfen und für $^1/_4$ Stunde in angesäuertes Glycerin einlegen (1 oder 2 Tropfen Essig auf 1 oder 2 Ccm. Glycerin), dann unmittelbar in wenige Tropfen einer wässerigen Lösung von Chinablau, schwacher Alkohol, absoluter Alkohol (5—10 Minuten), Terpentin, Damar.

Kultschitzky färbt Milz, deren Gefässe durch Unterbindung gefüllt sind, in Chinablau. Fixation in Sublimat oder Müller. Färbung der Schnitte mehrere Minuten in einer $^1/_4$—$^1/_2{}^0/_0$igen Lösung von Patentsäurefuchsin in $3^0/_0$iger Essigsäure, Auswaschen in $9^0/_0$iger Essigsäure, dann Färben in einer $^1/_2{}^0/_0$igen Lösung von Chinablau oder Wasserblau in $2^0/_0$iger Essigsäure, bis die Schnitte blau werden, dann $95^0/_0$iger Alkohol, Oel, Balsam.

Litteratur: Galli (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), Kultschitzky (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895).

Chininderivate siehe Alkaloide, pflanzliche.

Chinolin, $C_6H_4\left\langle\begin{array}{l}CH = CH \\ \quad\quad\;| \\ N \;= CH\end{array}\right.$, farblose, stark lichtbrechende Flüssigkeit von eigenartigem unangenehmem Geruch. Spec. Gew. bei 20° 1,0947. Siedepunkt bei 230°. Es reagirt alkalisch, ist in Wasser nur wenig löslich, mischt sich aber in jedem Verhältniss mit Alkohol, Aether, Schwefolkohlenstoff und ätherischen Oelen. Durch Neutralisation mit Säuren bilden sich feste Salze. Sie haben antiseptische und antipyretische Eigenschaften.

Von AMANN ist das Chinolin wegen seines hohen Brechungsindex als Beobachtungsmedium empfohlen worden.

Ein analog dem Anilinwasser hergestelltes Chinolinwasser empfiehlt BURCHARDT als Lösungsmittel für Anilinfarben. Dieselben sollen fester am Gewebe haften. Man spüle nach der Färbung in Chinolinwasser ab.

Das Chinolinchlorhydrat wurde von ROSENTHAL als Konservirungsmittel für thierische Gewebe empfohlen, sie sollen sich lange Zeit unverändert halten (Chinolinchlorhydrat 5, Kochsalz 6, Glycerin 100, Wasser 900).

Litteratur: AMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), BURCHARDT (Centr. allgem. Path., Bd. 5, 1894), ROSENTHAL (Biol. Centr., Bd. 9, 1890).

Chinolinblau. Syn. Cyanin (GEIGY), ein Chinolinjodcyanin $C_{28}H_{35}N_2J$, erhalten durch Behandlung von Amylchinolinjodid mit Alkalien. Metallisch glänzende, grüne Krystalle, die in kaltem Wasser und Aether unlöslich, in warmem Wasser wenig, in Alkohol loichter löslich sind. Durch Salz- oder Schwefelsäure wird die Lösung entfärbt, mit Natronlauge giebt sie einen blauen Niederschlag.

Zuerst von RANVIER benutzt und empfohlen sowohl zur Färbung frischer, als auch fixirter Gewebe. Sehr verdünnte, schwach alkoholische Lösung. Nach erfolgter Färbung wird in Wasser ausgewaschen und in Glycerin eingeschlossen. Es färbt sich vor allem das Fett blau.

Vielfach zum Färben einzelliger Organismen benutzt. CERTES bringt einen Tropfen der alkoholischen Lösung auf den Objektträger, lässt verdunsten und setzt dann den Tropfen mit den zu untersuchenden Organismen darauf. Nach GALEOTTI ist jedoch der Farbstoff ziemlich giftig, Salamander starben 5—6 Stunden nach der Injektion. Die Flimmerbewegung steht fast augenblicklich.

VIVANTE benutzt das Cyanin zur Färbung von entkalktem Knochen.

Auch zur Färbung pflanzlicher Fettstoffe ist es von WAKKER für Präparate empfohlen worden, die mit Pikrinsäure vorbehandelt waren.

Nach GOLENKIN ist das Cyanin ein gutes Reagens auf freies Jod oder stärkebläuende Jodverbindungen. Sie färben sich damit braun.

ZIMMERMANN benutzt gleiche Theile einer Lösung von Cyanin in 50%igem Alkohol und Glycerin zum Nachweis von verholzten und verkorkten Membranen.

Litteratur: RANVIER (Technisches Lehrbuch), CERTES (Amer. micr. Journ., Bd. 3, 1882), GALEOTTI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), VIVANTE (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 9, 1892), WAKKER (Maan. voor Naturweten 1899), GOLENKIN (Bull. Soc Imp. Natur. Moskau 1894), ZIMMERMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892).

Chinone siehe Chrysophansäure.

Chitin ($C_{15}H_{26}N_2O_{10}$) bildet das Hautskelet der Arthropoden, kommt aber auch sonst im Thierreich hie und da vor. Man gewinnt es aus Krebspanzern, den Flügeldecken von Käforn, am bequemsten jedoch aus den Schulpen von Sepia, indem man diese erst mit verdünnter Salzsäure vom Kalk befreit, dann nacheinander mit Kalilauge, Alkohol und Aether auskocht, zuletzt in koncentrirter Salzsäure durch Kochen löst und durch Wasser wieder ausfällt. Unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Alkalien, verdünnten

Mineralsäuren, auch in Kupferoxydammoniak, löslich dagegen in heisser koncentrirter Salzsäure oder Schwefelsäure. Zum Nachweis kocht man das zu prüfende Gewebe mit Aetzlauge. Das Chitin bleibt ungelöst, muss dann aber auch verdünnter Schwefelsäure widerstehen, sich dagegen in koncentrirter Säure lösen. (Auch soll es beim Kochen mit koncentrirter Salzsäure und Eindampfen der Lösung viel salzsaures Glykosamin in Krystallen liefern, in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich sein und süss, hinterher aber salzig schmecken.) Oder man unterwirft das Chitin der Jodprobe (AMBRONN, ZANDER): eine $33^1/_3$ %ige wässerige Lösung von Chlorzink, der man auf je 10 Ccm. 3—5 Tropfen einer koncentrirten wässerigen Lösung von Jodjodkalium zugesetzt hat, bringt man auf das vorher mit Kalilauge behandelte, dann aber sehr gut ausgewaschene Chitin, das sich nun aussen braun, innen violett färben muss. (Das Skelet der Bryozoen hat nur sich bräunendes Chitin; bei einigen Arthropoden ist hingegen die äussere Schicht im Vergleich zur inneren äusserst dünn. Die beiden Schichten verhalten sich auch sonst gegen Farbstoffe, namentlich beim Tingiren des Schnittes verschieden; meist nimmt die innere besser die Farben an als die äussere.) Eine Lösung von Jod in Chlorcalcium (destillirtes Wasser 4 Ccm., Jod $^1/_{20}$ Grm., Jodkalium $^1/_2$ Grm., Chlorcalcium 16 Grm.) färbt das Chitin rothviolett.

Manches Chitin ist für Farblösungen fast undurchdringlich und schneidet sich nach Einbettung in Paraffin nur schwer oder gar nicht. Zum Erweichen kann man nach LOOSS Kalium- oder Natriumhypochlorit benutzen, indem man die chitinösen Gewebe auf 24 Stunden oder länger in käufliches Eau de Javelle oder Labarraque, das mit dem 4—6fachen an Wasser verdünnt ist, legt und dann gut auswäscht. Oder man bringt sie allmählich in immer saureren Alkohol und lässt sie zuletzt wochenlang in absolutem Alkohol mit 12%iger Salpetersäure von 49% (BETHE, HERBST). Zum Bleichen verwendet man entweder nascirendes Chlor, das man aus Salzsäure und Kaliumchlorat (MAYER) entwickelt, oder die genannten Hypochlorite; zum Färben hellen, dünnen Chitins, besonders solchen, das vorher mit Kalilauge von den Weichtheilen befreit und gut ausgewaschen ist, nimmt MAYER eine Lösung von Pyrogallussäure in Alkohol oder Glycerin (Ueberfärbung ist durch Essigsäure zu korrigiren), BETHE dagegen erzeugt in Chitin selber Anilinschwarz, indem er die Schnitte abwechselnd in eine 10%ige wässerige Lösung von Anilinchlorhydrat und nach gutem Abspülen in eine ebensolche von Kaliumbichromat bringt. (Näheres siehe Anilinschwarz, vergl. auch Artikel Arthropoden.)

Litteratur: KRUKENBERG (vergl. Phys. Vorträge Nr. 4, Heidelberg 1885); BÜTSCHLI (Arch. Anat., 1874); AMBRONN (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890); ZANDER (PFLÜGER'S Arch., Bd. 66, 1897); LEE und MAYER (Grundzüge, 2. Aufl.), pag. 429. *Mayer*, Neapel.

Chitin in Pflanzen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Chlor. Das gasförmige Chlor entsteht, wenn man ein sauerstoffreiches Salz, wie Kaliumchlorat, Kaliumbichromat oder Mangansuperoxyd, mit Salzsäure behandelt. Leitet man das so erhaltene Chlor in ausgekochtes Wasser bei 10—15°, am besten in einer umgekehrten Retorte, so erhält man beim Schütteln das Chlorwasser, eine circa 2,5%ige Lösung von Chlor in Wasser, das Farbe und Geruch des Chlors besitzt. Beim Stehen am Licht zersetzt es sich unter Bildung von Chlorwasserstoff oder bei intensiver Beleuchtung unter Bildung von Chlorsäure.

Die für unsere Zwecke wichtigste Eigenschaft des Chlors ist seine grosse Verwandtschaft zum Wasserstoff, die es befähigt, aus Wasser Sauerstoff frei zu machen, vor allem in Gegenwart organischer Substanzen. Der nascirende Sauerstoff wirkt seinerseits wiederum oxydirend auf die vorhandenen organischen Körper ein. Auf dieser Eigenschaft beruht die des-

inficirende, bleichende und manche organische Stoffe, wie Chitin und Eiergallerte, lösende Wirkung des Chlors.

In der Mikrotechnik benutzt man zum Entwickeln des Chlors chlorsaures Kalium mit Salzsäure (MAYER), Eau de LABARRAQUE mit Salzsäure (HEILMEYER), oder man legt die zu bleichenden Gewebe in Chlorwasser (KOGANEI), Eau de JAVELLE oder Eau de LABARRAQUE ein. (Näheres siehe auch Chitin und Pigment.)

Zum Nachweis von Chlor im Zellsaft benutzt SCHIMPER entweder Silbernitrat oder Thalliumsulfat. Das im ersteren Falle entstehende amorphe Silberchlorid ist kenntlich an seiner Löslichkeit in Cyankalium, koncentrirtem Quecksilbernitrat oder unterschwefligsaurem Natron. Löst man die amorphen Massen in Ammoniak, so scheiden sich beim Verdunsten reguläre Krystalle ab, die sich am Licht violett färben. Das im zweiten Falle entstehende Thalliumchlorid bildet reguläre Oktaëder.

Litteratur: SCHIMPER (Flora, 1890).

Chloralhydrat = Trichloracetaldehyd (Chloral) + Wasser, $C\,Cl_3 - C\,H\,O + H_2\,O$, farblose Krystalle von stechendem Geruch und bitterem Geschmack. Schmelzpunkt: 57°, spec. Gew.: 1,9 bei gewöhnlicher Temperatur. Leicht löslich in Wasser, Alkohol und Aether, in 45 Theilen Schwefelkohlenstoff bei gewöhnlicher Temperatur, in 4—5 Theilen siedendem Schwefelkohlenstoff, langsam in 5 Theilen Chloroform löslich. Beim Erwärmen mit Alkalien wird Chloroform abgeschieden; hierauf beruht nach LIEBREICH die anästhesirende Wirkung des Chloralhydrats nach dem Uebergange ins Blut. Dem Chloralhydrat kommen antiseptische Eigenschaften zu, indem es mit den Albuminaten nicht faulende Verbindungen eingeht.

Chloralhydrat hat ausgedehnte Verwendung in der mikroskopischen Technik gefunden:

1. In der botanischen Technik, und zwar: *a)* zur Untersuchung sehr kleiner Pilze in frischem Zustande in einer Koncentration von 5:2 oder noch besser kalt gesättigt (H. MÖLLER); *b)* zum Nachweis des gleichzeitigen Vorkommens von Chlorophyll und einem rothen Farbstoff, wobei sich das Chlorophyll gleichmässig in der Zelle vertheilt, der rothe Farbstoff in rothen Tropfen zusammenfliesst, dann in Nadeln auskrystallisirt (OVERTON); *c)* zum Sichtbarmachen karyokinetischer Figuren ohne vorherige Fixation durch Einlegen von Schnitten lebender Pflanzentheile direkt in eine koncentrirte wässerige Lösung von Chloralhydrat (ZIMMERMANN); *d)* mit Jod zusammen zum Nachweis von Stärkekörnern (koncentrirte wässerige Lösung, ARTHUR MEYER); *e)* als Einschlussmittel mit Gelatine versetzt in 10%iger Lösung (GUIGNARD, GEOFFROY); *f)* als Aufhellungsmittel pflanzlicher Gewebsstücke (MOELLER, SCHIMPER, LENZ).

2. In der anatomischen Technik, und zwar: *a)* beim Studium der Befruchtungs- und Theilungsvorgänge des thierischen Eies unter dem Einflusse äusserer Agentien (Gebrüder HERTWIG); *b)* beim Studium des Einflusses äusserer Agentien auf einzellige Wesen (SCHÜRMAYER); *c)* zum Betäuben niederer Thiere (von FOETTINGER, KÜKENTHAL, VERWORN, HÉROUARD, LO BIANCO, HAMAKER); *d)* als Zusatz zu Syrup bei der Untersuchung von Geweben in frischem Zustande (1—7%, LEE und HENNEGUY); *e)* zum Aufbewahren von gehärteten Grosshirnscheiben (1 : 40, HAMILTON); *f)* als Zusatz zur Konservirung von Leimwasser — wegen der antizymotischen Wirkung — zur Injektion (HOYER); *g)* zur Maceration der Retina (von ANDRÉ, KRAUSE, HICKSON, der letztere insbesondere für die Retina der Arthropoden); ferner in einer Macerationsflüssigkeit, bestehend aus einem Theil gewöhnlicher Essigsäure, einem Theil Glycerin, 6 Theilen 1%iger Chloralhydratlösung in einer Methode, die Nervenendigungen an Muskelfasern und Gefässen nach-

zuweisen, und zwar zunächst zur Maceration der Bindesubstanzen, dann zum Färben (1 Theil EHRLICH'sches Hämatoxylin, 1 Theil Glycerin, 6 Theile 1%iger wässeriger Chloralhydratlösung von SIHLER, mitgetheilt von GAD); dann zur Maceration und gleichzeitig zur Konservirung der Speicheldrüsen (LAWDOWSKY), für das Gehirn (von BUTZKE, s. a. TRINKLER); *h)* als Zusatz zur neutralen Karminlösung (HOYER), als saures Chloralhydratkarmin (KULTSCHITZKY), als Zusatz zum Ammoniakpikrokarmin (VAN WIJHE); *i)* in einer Chloralhydrat-Hämatoxylinlösung (GAGE); *k)* zum Auswaschen von Schnitten, die mit $^1/_2$—1%iger Lösung von Anilin-blue-black gefärbt sind (BEVAN, LEWIS); *l)* als Medium zur Untersuchung in wässeriger Lösung 5% (LAWDOWSKY), 1% (MUNSON), in einer Gummi-Chloralhydratlösung (HOYER), in einer Glycerin-Chloralhydratlösung (LEE und MAYER).

Litteratur: ANDRÉ (Journ. de l'Anat. Phys., 1874), BUTZKE (Arch. Psych., 1872), FOETTINGER (Arch. Biol., Bd. 6, 1885), GAD (Verhandl. Phys. Ges. Berlin, 1893, im Arch. Physiol.), GAGE (Proc. Americ. Soc. Micro., Bd. 14, 1892), GEOFFROY (Journ. Botan., 1893), GUIGNARD (Annal. sc. nat. Bot., Sér. VII, P. XIV), HAMAKER (Bull. Mus. Comp. zool. Harvard, Bd. 32, 1898), HAMILTON (Journ. of Anat. Phys., Bd. 12, 1878), HÉROUARD (Arch. Zool. Expér., Bd. 7, 1883), O. und R. HERTWIG (Jen. Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), HICKSON (Quart. Journ. Micr. Soc., 1885), HOYER (Biol. Centr., 1882—1883), KRAUSE (Inter. Monat. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), KULTSCHITZKY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), KÜKENTHAL (Mikroskopische Technik, 1885, und Jen. Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), LAWDOWSKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), LEE und HENNEGUY (Traité des méthodes techniques, 1896, pag. 260), BEVAN LEWIS (Quart. Journ. micr. soc., Bd. 16, 1876, und Med. times and gaz., 1876), WILHELM LENZ (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), LO BIANCO (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 5, 1890), ARTHUR MAYER (Das Chlorophyllkorn, Leipzig 1883), H. MÖLLER (Ber. Deutsch. bot. Ges., Bd. 7, 1850), OVERTON (Bot. Centr., Bd. 44, 1890), SCHÜRMAYER (Jen. Zeit. Natur., Bd. 24, 1890), SIHLER (s. b. GAD), TRINKLER (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1884), VERWORN (Zeit. wiss. Zool., Bd. 46, 1887), ZIMMERMANN (Botanische Mikrotechnik, 1892).

Mosse, Berlin.

Chlornatrium, Na Cl, krystallisirt in farblosen, luftbeständigen und wasserfreien Würfeln, bei 772° schmilzt es und verdampft allmählich. Es löst sich bei 14° zu 35,87%, bei 50° zu 36,98% und bei 100° zu 39,61% in Wasser. In Alkohol ist es fast unlöslich, in 95%igem Alkohol lösen sich 0,172%, in 70%igem Alkohol 1% Chlornatrium.

Das Chlornatrium, der wichtigste anorganische Bestandtheil aller Organismen, hat auch in der Mikrotechnik eine ausgedehnte Anwendung gefunden, in isotonischer Lösung 0,7—1,0% als indifferentes Zusatzmedium. Höherprocentige Kochsalzlösungen haben eine macerirende Wirkung und wirken gleichzeitig durch Wasserentziehung schrumpfend auf die Gewebe ein. Chlornatrium ist in zahllosen Fixations-, Entkalkungs- und Macerationsgemischen enthalten, es dient als Zusatz zu Farblösungen besonders für lebende oder überlebende Objekte.

Chloroform, Trichlormethan, $CHCl_3$ wird im grossen durch Oxydation von Aethylalkohol oder Aceton mit Chlorkalk gewonnen und durch Destillation und Ausfrieren gereinigt (PICTET). Sehr reines Chloroform entsteht durch Zerlegung von Chloral mit Natronlauge ($CCl_3 . CHO + NaOH = HCOONa + CHCl_3$ (LIEBREICH).

Reines Chloroform ist eine farblose, stark lichtbrechende (Brechungsindex bei 10° 1,449) Flüssigkeit von betäubendem Geruch und süsslichem, zugleich brennendem Geschmack. Es siedet bei + 61°, seine Dämpfe sind kaum brennbar; bei starker Abkühlung krystallisirt es (Reinigung nach PICTET). Spec. Gew. 1,526 bei 0°, mischbar mit organischen Solventien, aber nicht mit Wasser, in dem es untersinkt, sich aber allmählich etwas löst. Dieses Chloroformwasser wirkt stark antiseptisch (SALKOWSKI). Bei 17,5° vermag das Wasser 0,712% Chloroform zu lösen. Vorzügliches Lösungsmittel für Oele, Fette, Harze, Kautschuk; viele Alkaloide und freies Jod (letzteres mit violetter Farbe) werden von Chloroform aufgenommen. Das officinelle

Chloroform enthält 1⁰/₀ Aethylalkohol, da sich reines Chloroform unter Einwirkung von Luft und Licht leicht zersetzt.

Die Prüfung auf Reinheit erfolgt durch Schütteln mit koncentrirter Schwefelsäure, wobei reines Chloroform farblos bleibt. Dasselbe darf beim Verdunsten keinen Rückstand hinterlassen. Alkalien und Ammoniak wirken, namentlich bei Gegenwart von Alkohol und bei erhöhter Temperatur, chemisch auf Chloroform ein. *Neuberg*, Berlin.

Bekannt ist die narkotisirende Wirkung des Chloroforms, von der auch in der Mikrotechnik zum Betäuben von Wirbelthieren und Wirbellosen ausgedehnter Gebrauch gemacht wird. (Näheres siehe Narkose.)

Von GIESBRECHT und BÜTSCHLI ist ungefähr gleichzeitig das Chloroform als Intermedium für Paraffineinbettung eingeführt worden und nimmt in dieser Beziehung auch heute noch die erste Stelle ein. Es wirkt als Intermedium ausserordentlich schonend, vor allem aber verdient es vor Xylol und Benzol überall da den Vorzug, wo es sich um an Bindegewebe reiche Organe handelt. Sie erlangen in Chloroform eine entschieden bessere Schnittkonsistenz als in anderen Intermedien. Von grosser Wichtigkeit ist es auch, dass Chloroform rückstandslos verdunstet, wodurch ein Verschmieren des Paraffins verhindert wird.

Das Chloroform hat die Eigenschaft, Celloidin zu härten, und ist für diesen Zweck vor allem von VIALLANES, LEE und GILSON sowohl in Dampfform als auch in Verbindung mit Cedernholzöl benutzt worden (Näheres siehe Celloidin). Nach unseren Erfahrungen leistet es aber in dieser Beziehung nicht mehr als Alkohol und weniger als Formalin.

Die Eigenschaft des Chloroforms, Fette, Harze und ähnliche organische Körper zu lösen, findet ausgedehnte Anwendung zur Lösung von Kanadabalsam, Guttapercha, auch zur Entfernung des Myelins der markhaltigen Nervenfasern.

Aehnlich wie dem Chloralhydrat kommen auch dem Chloroform antiseptische Eigenschaften zu und man benutzt das Chloroformwasser z. B. zur Haltbarmachung von leicht faulenden Lösungen, wie Gelatine, Karminlösungen etc.

Auch zu manchen Fixationslösungen, wie zu dem CARNOY'schen Alkohol-Essigsäuregemisch, hat man Chloroform zugesetzt und damit die Durchdringungsfähigkeit des Fixationsgemisches erhöht.

Litteratur: GIESBRECHT (Zool. Anz., Bd. 4, 1881), BÜTSCHLI (Biol. Centr., Bd. 1, 1881), VILLIANES (Annal. Sc. nat. [6], Bd. 14, 1883), LEE und MAYER (Grundzüge), GILSON (Cellule, Bd. 6, 1890).

Chlorophycaeen. Die Konservirung und Präparation der Grünalgen, Chl. (ebenso wie die der Konjugaten) wird durch die relative Undurchlässigkeit und andererseits leichte Kollabirung sehr erschwert. Als das allgemeinste brauchbare Fixirmittel hat sich (neben Chromosmiumessigsäure, 1⁰/₀iger Chromsäure, 1⁰/₀iger Osmiumsäure, koncentrirter wässeriger Pikrinsäure), Chromessigsäure (70 Ccm. 1⁰/₀ige Chromsäure, 5 Ccm. Eisessig, 50 Ccm. Wasser) bewährt. Sollte das Material kalkhaltig sein, muss die Fixirungsflüssigkeit bald erneuert werden. Die Einwirkung geschieht wenige, bis 12 (höchstens 24) Stunden, Auswaschen unter häufigem Wasserwechsel. Zarte Algen können auch nach Ausschwenken im Wasser mit schwacher wässeriger Lösung schwefliger Säure und dann wieder Wasser ausgewaschen werden. — Material, das nur zur Bestimmung konservirt werden soll, fixirt man am besten in einer Mischung von gleichen Theilen Formol, Holzessig und Methylalkohol.

Die Ueberführung in Alkohol geschieht am besten durch 10⁰/₀iges Glycerin, aus dem im Exsiccator das Wasser entfernt wird, dann kann in 95⁰/₀igen und absoluten Alkohol übertragen werden. Auch die Ueberführung durch das F. E. SCHULTZE'sche Entwässerungsgefäss ist unter Umständen zu empfehlen. Zur Färbung neben vielen anderen, zumal Karmin-

und Hämatoxylinfarbstoffen wird besonders Magdalaroth empfohlen, das in 85—95%igem Alkohol gelöst ist. Es wird tropfenweise dem 95%igen Alkohol, in dem sich die Objekte befinden, zugefügt. Ueberfärbung der fertigen Präparate wird durch Belichtung in der Sonne auf weisser Unterlage korrigirt. Eine Nachfärbung kann mit verdünntem wasserlöslichen Anilinblau in 85%igem Alkohol vorgenommen werden, das durch momentanes Eintauchen in 0,25%ige Salzsäurealkohol differenzirt wird. Anilinblau ist bei Algen mit starker Gallerthülle, die sich mitfärbt, nicht angebracht. Scharfe Konturen im Zellinhalt und Struktur der Membranen werden durch Eisenfärbungen erzielt: Eine Stunde und länger in koncentrirter 95%iger alkoholischer Lösung von Eisenchlorid, tagelanges sorgfältiges Auswaschen in 95%igem Alkohol, zu dem schliesslich ein paar Tropfen von Gallussäure zugesetzt werden; bei Ueberfärbung Auswaschen mit 1%igem Säurealkohol. Aehnlich ist das Verfahren mit Echtgrün und Galleïn. — Aufbewahrt werden die Präparate in 10%igem venetianischen Terpentin, der im Exsiccator eingedickt wird, doch muss das Deckglas dann mit Kanadabalsam oder Wittschem Cement eingerahmt werden. — Die Uebertragung kann auch mit Hilfe des F. E. Schultze'schen Senkeylinders (Alkohol, Xylol, Kanadabalsam) geschehen, oder die Algen werden in 10%ige alkoholische Lösung von Nelkenöl übertragen und im Exsiccator eingedampft. Würde Alkohol zu stark die Farbe ausziehen, kann auch vorsichtig von Alkohol in Chloroform übertragen und erst dies, wenn die betreffenden Einbettungsmedien in ihm aufgelöst, verdunstet werden.

Sollen Fadenalgen mit dem Mikrotom geschnitten werden, müssen sie in geeigneter Weise orientirt werden. Man kann die büschelweis mit der Pincette erfassten Algen auf Fliesspapier bringen und einrollen und dann das ganze Packet weiter behandeln. In ähnlicher Weise können auch die schon vorher fixirten Algen in ein Photoxylinhäutchen eingerollt werden, das man sich herstellt, indem man einen gut mit Glycerin eingeriebenen Objektträger in Photoxylin (oder auch Collodium) taucht und in senkrechter Stellung bis zum Trockenwerden stehen lässt. Das Packet wird bis zum Paraffin auf einem flachen Kork mit Nadeln befestigt. Verzweigte Algen breite man auf einem erwärmten, in obiger Weise zubereiteten Objektträger aus, der mit Paraffin bedeckt wird. Nach dem Erwärmen wird das Ganze abgehoben, auf Paraffin geklebt und die Haut abgezogen. — Sehr kleine Algen, Schwärmsporen u. dergl. können in einer Photoxylinblase eingebettet werden. Man stellt dieselbe am Ende einer Glasröhre her, in der man die in der Flüssigkeit suspendirten Objekte heruntersinken lässt, dann wird die Blase abgenommen, mit Photoxylin zugestrichen und die weiteren Operationen mit dieser etwa noch mit Gentianaviolett gefärbten Blase ausgeführt. Kultur s. Algenkultur.

Litteratur: Pfeiffer von Wellheim (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 26, 1894 und Oesterr. bot. Zeit., Bd. 48, 1898), Strasburger (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl.). *Magnus*, Berlin.

Chlorophyll. Das Chlorophyll, hergestellt durch 24stündige Alkoholextraktion der Blätter von Syringa vulg., Eindampfen des Filtrats und Lösen in Wasser, wurde von Trinkler zur Färbung der Magenschleimhaut verwendet.

Nach Pappenheim soll sich das Chromatin intensiver mit Methylgrün färben, wenn man die Schnitte vorher mit einer gesättigten wässerigen Lösung von Chlorophyll behandelt.

Litteratur: Trinkler (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1885), Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 157, 1899).

Chlorophyll siehe Chromatophoren, pflanzliche.

Chloroplastin siehe Zellchemie.

Chlorzinkjod, Hauptreagens auf Cellulose, siehe Zellmembranen, pflanzliche. Darstellung: Chlorzink 20 Grm. (30 Grm.), Jodkalium 6,5 Grm. (5 Grm.), Jod 18 Grm. (1 Grm.) nach Behrens' (Tabellen). In dunklen Flaschen haltbar. *Magnus*, Berlin.

Cholera asiatica. Der Erreger der Cholera asiatica, der Choleravibrio, auch Kommabacillus genannt, wurde 1883 von R. Koch (1—3) nachgewiesen.

In vielen Fällen gelingt der Nachweis am besten in Ausstrichpräparaten möglichst frisch entleerten Stuhles, bezw. Darminhalts, insbesondere der in demselben überaus häufigen, kleinen Schleimflöckchen. Man trocknet und fixirt das ausgestrichene Material in der üblichen Weise und färbt es mit verdünnter Fuchsin- oder Methylenblaulösung. In derartigen Präparaten trifft man häufig die Choleravibrionen in ganzen Häufchen oder in eigenartiger, besonders charakteristischer, »fischzugähnlicher« Lagerung an. Sehr gute Untersuchungsobjekte stellen auch mit Stuhl beschmutzte und einige Zeit in feuchtem Zustande aufbewahrte Wäschestücke dar, da sich, nach KOCH's Angabe, unter diesen Umständen die Choleravibrionen vorübergehend stark vermehren können.

Weit schwieriger ist der Nachweis in Schnitten von der Darmschleimhaut; am ehesten soll er noch im Stadium der fleckenweisen Röthung gelingen, in welchem man die Vibrionen relativ häufig in den obersten Schichten der Darmschleimhaut vorfindet. Zur Färbung derartigen Materials wird am meisten alkalische Methylenblaulösung empfohlen. Irgend eine brauchbare Doppelfärbung ist bisher nicht bekannt geworden. Nach der GRAM'schen Methode sind die Vibrionen nicht färbbar. Der tinktorielle Nachweis von Choleravibrionen in anderen Organen als dem Darm ist von einzelnen Autoren berichtet, gehört aber zweifellos zu den grössten Seltenheiten.

Völlig aussichtslos ist der Versuch des direkten mikroskopischen Nachweises in anderem, verdächtigem Material, z. B. Wasser, Milch u. a. Bei ihnen muss man ebenso wie bei den Darmentleerungen, falls der direkte tinktorielle Nachweis versagt, zu besonderen Kulturverfahren greifen, welche am besten in den Specialwerken der bakteriologischen Technik einzusehen sind. Das Wesentliche an ihnen ist, dass das verdächtige Material unter Bedingungen gebracht wird, in denen sich die Choleravibrionen besser als die anderen gleichzeitig vorhandenen Bakterien und in besonderer charakteristischer Kolonieform entwickeln. Dies geschieht in Gelatine folgender Zusammensetzung: $1^1/_2\,^0/_0$ige (LIEBIG's) Fleischextraktbouillen und $15^0/_0$ige Gelatine werden zusammengemischt und zu je 1 Liter des Gemisches 60 Ccm. $10^0/_0$ige Sodalösung zugesetzt. Hält man solche z. B. mit Cholerastuhl angelegte Platten bei einer Temperatur von 20—22°, so zeigen sich nach 16—20 Stunden feinste Pünktchen, die sich mit schwacher Vergrösserung als weisse, gelblich-helle, unregelmässig wellig umrandete Kolonien darstellen, welche nach einigen Stunden grösser und sehr hellglänzend sind und »wie mit kleinen Glasstückchen bestreut« erscheinen. Diese Kolonien sind ausserordentlich charakteristisch, gehen aber nach Verlauf von wenigen Stunden infolge Verflüssigung der ringsum belegenen Gelatine und Tiefersinken in dieselbe in weniger charakteristische, mehr gelbe, bräunliche, körnige, oft koncentrisch geschichtete scharfrandige Gebilde über.

Präparate von Reinkulturen sind mit den gewöhnlichen Farblösungen färbbar und zeigen die Vibrionen als schraubenförmig gekrümmte Stäbchen von 1,5—3,9 μ Länge und 0,4—0,5 μ Dicke. Die Form schwankt nach Alter der Kultur, Rasse, Nährboden und Präparationsmethode. Die jüngsten Individuen sind meist sehr schwach gekrümmt, die älteren stärker bis zur Halbkreisform, was sich aber in den gefärbten Präparaten auch oft verwischt. Häufig kommen durch Aneinanderhaften zweier Individuen ε- oder S-förmige Figuren zustande, manchmal, besonders im hängenden Tropfen zu einer längeren derartigen Kette, so dass Schrauben von 10—20 Windungen entstehen. Ausserdem findet man in älteren Kulturen häufig theils stark gequollene Stäbchen, theils kleinere kugelige Gebilde, welche Involutionsformen, beziehungsweise die Zerfallsprodukte derselben darstellen. Bei Färbung mit den gewöhnlichen Farblösungen bleibt in der Mitte der-

artiger degenerirter Stäbchen oft eine ungefärbte Stelle, die wie auch die freien Körnchen von manchen Forschern für Sporen angesprochen wurden, eine Auffassung, die heute fast allgemein aufgegeben ist.

Zur Untersuchung der lebenden Vibrionen benützt man unter den schon beim Abdominaltyphus besprochenen Vorsichtsmassregeln den hängenden Tropfen. In demselben erweisen sich die Vibrionen als ausserordentlich lebhaft beweglich. Diese Beweglichkeit beruht auf dem Vorhandensein von einer, selten 2 oder 3 Geisseln, welche nach der von LÖFFLER auch für andere Bakterien angegebenen und unter Berücksichtigung einiger besonderer Technicismen bereits beim Typhus ausführlich besprochenen Methode leicht darstellbar sind. In derartigen Präparaten sehen die Vibrionen dicker aus als in den auf die gewöhnliche Weise gefärbten, weil in ihnen auch die Membran der Bakterienzellen, nicht nur der Protoplasmakörper, manchmal sogar noch durch deutlichen Farbenunterschied von dem letzteren abgesetzt, mitgefärbt ist.

Es giebt einige dem Erreger der Cholera asiatica morphologisch und kulturell ähnliche Vibrionen. Ihre Unterscheidung geschieht in letzter Instanz durch die »PFEIFFER'sche Reaktion«. Diese Reaktion, die sich in ganz ähnlicher Weise auch zur Diagnose des Abdominaltyphuserregers verwerthen lässt, beruht darauf, dass das Serum gegen Cholera oder Typhus immunisirter Thiere bei der gleichzeitigen Einspritzung mit Cholera-, respektive Typhusbacillen in den Peritonealsack eines Thieres die Eigenschaft hat, nach kürzester Zeit die eingebrachten Cholera-, respektive Typhusbacillen zum Zerfall zu bringen, und zwar nur diese, nicht aber andere ähnliche Bakterien.

Die Technik der unter Umständen recht langwierigen und schwierigen Gewinnung der nothwendigen Sera ist in den Specialbüchern der bakteriologischen Technik, beziehungsweise den Originalarbeiten PFEIFFER'S und ISSAEFF'S[1]) einzusehen. Nach Einverleibung des Serum- und Bacillengemisches in das Peritoneum des Versuchsthieres entnimmt man nach 20 Minuten und dann von Zeit zu Zeit mittels feiner, in die Bauchhöhle eingestossener Glaskapillaren kleine Tröpfchen der Peritonealflüssigkeit und überzeugt sich im hängenden Tropfen von der Wirkung des Serums auf die Bacillen. Ist eine solche vorhanden, so zerfallen dieselben in kleine Körnchen und Trümmer, die allmählich gänzlich aufgelöst zu werden scheinen.

Litteratur: R. KOCH (Deutsch. med. Woch. 1883 u. 84), R. KOCH und GAFFKY (Arb. a. d. kais. Gesundheits. Bd. 3, 1887), Konferenz zur Erörterung der Cholerafrage I. Jahr 1884 und II. Jahr 1885 (Deutsch. med. Woch. 1884 und 85), PFEIFFER und ISSAEFF (Zeit. Hyg., Bd. 16—20, 1894—95).

Heymann, Breslau.

Cholesterin, $C_{27} H_{45} . OH + H_2O$, findet sich als Bestandtheil zahlreicher Gewebe: Nerven, Blut, Fett etc. weit verbreitet im thierischen Organismus. Es krystallisirt in farblosen Täfelchen, die in Wasser unlöslich, leicht löslich in heissem Alkohol, Aether, Chloroform und Eisessig sind. Es hat den Charakter eines einatomigen Alkohols und bildet mit Säuren zusammengesetzte Aether. Koncentrirte Schwefelsäure färbt das Cholesterin roth und in Gegenwart von Jod zuerst blau, dann grün und roth.

Auf dieser Reaktion beruht der Nachweis des Cholesterins unter dem Mikroskop. Man versetzt das Präparat mit etwas verdünnter Schwefelsäure (5 koncentr. Säure und 1 Wasser) und erhitzt, dann tritt Rothfärbung ein.

Cholin siehe Alkaloide, pflanzliche.

Chondrin siehe Knorpel.

Chorioidea siehe Sehorgan.

Chromalaun siehe Alaune.

Chromatin siehe Zellchemie.

Chromatleim. Bekanntlich hat die Chromsäure und ihre Salze die Eigenschaft, Gelatine unlöslich zu machen, wenn man die mit ihr versetzte Gelatine dem Licht aussetzt. Diese Eigenschaft benutzt VAN WALSEM zur Herstellung eines Klebemittels für Celloidinpräparate, indem er 2 Theile einer 20%igen Gelatinelösung durch Erwärmen flüssig macht und ihr 1 Theil 2%ige Lösung von Kaliumbichromatlösung zusetzt.

Litteratur: VAN WALSEM (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894).

Chromatophoren, thierische. Ein ausgezeichnetes Objekt zum Studium der Chromatophoren ist nach den Untersuchungen von SOLGER und ZIMMERMANN die Haut der Knochenfische. Nach SOLGER lässt man einen lebenden Hecht $^1/_2$—1 Stunde in einem verdunkelten Bassin, trennt dann den Kopf ebenfalls im Dunkeln mit einer Knochenscheere ab und legt in FLEMMING-sche Lösung ein. Nach einigen Stunden entfernt man das Epithel und legt den Kopf in die gleiche Flüssigkeit, die mit dem gleichen Volum 1%iger Chromsäure verdünnt ist, noch für 24 Stunden ein, dann Auswaschen, steigender Alkohol und Anfertigung von Flächenschnitten mit dem Rasiermesser.

ZIMMERMANN benutzt die Rückenflosse, fixirt dieselbe in $^1/_4$%iger Chromsäure mit 5% Eisessig und pinselt das Epithel ab. Man kann nun das Präparat noch für 24 Stunden in reine $^1/_4$%ige Chromsäure oder verdünnte HERMANN'sche Flüssigkeit einlegen. Nach 24stündigem Auswaschen zieht man möglichst grosse Cutisstücke ab und färbt in Hämatoxylin-Eosin. Zum Bleichen des Pigments bringt man die Stückchen in kleine, gut schliessende Fläschchen, die zu einem Viertel mit chlorsaurem Kali gefüllt sind. Dann fügt man 96%igen Alkohol und einige Tropfen koncentrirter Salzsäure zu. Ist nach 24 Stunden noch keine Entfärbung eingetreten, so fügt man noch einige Tropfen Salzsäure zu. Auswaschen mit 96%igem Alkohol und Färbung mit BÖHMER'schem Hämatoxylin oder Eisenhämatoxylin.

Zur Färbung der Nerven der Chromatophoren behandeln EBERTH und BUNGE kleine Stückchen der Haut von der Mundspalte von Fischen nach der Golgimethode. Die Schnitte kommen zum Bleichen des Pigments 15 bis 20 Minuten in Chlorwasser, werden $^1/_4$ Stunde ausgewaschen in destillirtem Wasser, dann Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Reduktion des gebildeten Chlorsilbers am Licht.

Litteratur: SOLGER (Zool. Anz., Bd. 12, 1889), ZIMMERMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), EBERTH und BUNGE (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895).

Chromatophoren, pflanzliche. Den Pflanzenzellen charakteristisch sind meist rundliche, stark eiweisshaltige Körper, die dem lebenden Protoplasma angehören und wahrscheinlich (SCHIMPER) nur aus sich selbst durch Theilung entstehen. (Demonstrationsobjekte: Prothallien von Farnen, Blätter von Laubmoosen, Minium, Funaria.) Sie werden nach ihrer Färbung unterschieden in farblose Leukoplasten oder Stärkebildner im eigentlichen Sinne, grüne Chloroplasten oder Chlorophyllkörner und andersfarbige Chromatophoren, die alle in genetischem Zusammenhange stehen und vielfach ineinander übergehen können. — Ueber die Reaktion ihrer Substanz, des Chloroplastins und Melaïns (FRANK SCHWARZ) siehe Zellchemie. Die Chromatophoren degeneriren sehr leicht, so dass ihre Lebendbeobachtung auf Schnitten besonders zum Studium ihrer Struktur nur in etwa 5%iger Zuckerlösung anzurathen ist. Soll nur Stärke in ihnen, z. B. im Chlorophyllkorn, nachgewiesen werden, so werden sie unter Hervortretenlassen der Stärkekörner durch Chloralhydratjod zerstört. Zu ihrer feineren Untersuchung, zumal um über ihre Antheilnahme bei der Stärkebildung Aufschluss

zu gewinnen, sind Fixirung und Färbung erforderlich. Als Fixirung haben sich am besten bewährt koncentrirte alkoholische Sublimatlösung, koncentrirte alkoholische Pikrinlösung oder am besten eine koncentrirte alkoholische Lösung von Sublimat und Pikrinsäure 24 Stunden lang, Auswaschen in fliessendem Wasser (Jod meist unnöthig) oder bei Pikrinsäure in Alkohol von steigender Koncentration. Auch FLEMMING wird empfohlen, scheint aber vielfach Quellungen hervorzurufen. Die Färbung, besonders nach Sublimat, geschieht mit ALTMANN's Säurefuchsinmethode (20 Grm. Säurefuchsin in 100 Ccm. Anilinwasser erwärmt auf Objektträger, Auswaschen mit 1 Theil koncentrirter alkoholischer Pikrinsäure und 2 Theile Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam) oder ebensogut HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin. Besonders bei letzterer Färbung treten die Schichten der Stärkekörner scharf hervor. Siehe diese. — Sonst wird nach Säurefuchsin noch für die Stärkekörner Gentianaviolett und Orange angewandt oder schliesslich nach FLEMMING das FLEMMING'sche Dreifarbengemisch. (Demonstrationsmaterial: Kartoffelknollen, wenige Schichten unter dem Kork, Scheinknollen von Phajus grandifolius, Stengel von Pelionia deveana.

Litteratur: ZIMMERMANN (Bot. Mikrotechnik, Tübingen 1892), SALTER (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 32, 1898).

Ueber Proteïnkrystalloideinschlüsse siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle. Ueber Carotinkrystalle in Chromatoplasten siehe Chromatophorenfarbstoffe.

Die Chromatophoren der Algen enthalten oft abgegrenzte, meist rundliche Theile, die von Stärke umgeben sind, Pyrenoide oder Stärkeherde, die typisch Eiweissreaktion zeigen. Sie werden nach der Methode für Krystalloide (siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle) zur Darstellung gebracht oder auch schnell durch Behandlung mit kochendem Wasser. Weiteres siehe STRASBURGER (Gr. bot. Prakt., 3. Aufl.).

Ueber die den Chromatophoren nahe verwandten Elaioplasten vergl. Oele, pflanzliche.

Die Chlorophyllkörner zeigen vielfach Eigenbewegung. Werden Blätter der Laubmoose (Funaria), die in diffusem Tageslicht verweilt, intensivem Sonnenlicht unter dem Mikroskop ausgesetzt, so runden sich nach wenigen Minuten die bis dahin polygonalen Chlorophyllkörner ab. — Durch Bewegung des sie umgebenden Plasmas werden sie auch von der Vorderseite nach dem Rande geführt. Demonstrationsobjekt: Dreiblätterige Entengrütze (Lemna trisulca).

Litteratur: STAHL (Bot. Zeit., 1880). *Magnus*, Berlin.

Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen. Die grünen Chromatophoren, die Chlorophyllkörner, enthalten zwei Hauptgruppen von Farbstoffen, die nach ihrer leichteren Löslichkeit in Benzol oder Alkohol, erstere mit grüner Farbe löslich als Cyanophyll, letztere mit gelber Farbe löslich als Xanthophyll unterschieden werden. Zu einer koncentrirten alkoholischen Lösung (über Färbung verkorkter Zellmembranen und Darstellung siehe Zellmembrane, pflanzliche) wird Benzol und dann ein paar Tropfen Wasser hinzugefügt, dann geschüttelt. Die grüne Benzolschicht enthält das eigentliche Chlorophyll, kenntlich an seiner rothen Fluorescenz und charakteristischem Absorptionsspektrum (besonders im Roth) makroskopisch, mikroskopisch erstens durch die sogenannte Chlorophyllan- oder Hypochlorinreaktion; beim Zusatz von Eisessig zum Präparat scheiden sich bald amorphe Massen des zersetzten Chlorophylls an der Oberfläche der Chloroplasten ab. Zweitens nach Zusatz von koncentrirter wässeriger Kalilauge verschwindet die grüne Farbe, um nach längstens $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, schneller nach Erwärmen, wieder zu erscheinen.

Litteratur: A. MEYER (D. Chlorophyllkorn, Leipzig, A. Felix, 1883), MOLISCH (Ber. d. d. bot. Ges., 1896).

Weiter enthält die Benzolschicht einen gelben Farbstoff, das Carotin, der auch sonst oft in Form rhombischer Krystalle in Chromoplasten vorkommt. Sehr schön in der Mohrrübe (Carota daucus), daraus durch Petrol-

äther leicht zu extrahiren. Mit Jodlösung färbt es sich grünlich, mit koncentrirter Schwefelsäure indigblau, ebenso auch der rothe »Augenfleck« der Schwärmsporen und Flagellaten (Klebs). — Die alkoholische gelbe Xanthophyllösung enthält einmal gelbe Farbstoffe, das amorphe Xanthophyll (Xanthocarotin und eigentliches Xanthophyll nach Tschirch [Ber. d. d. bot. Ges., 1896]), das sich mit starker Salzsäure grün bis dunkelblau färbt, dann aber auch einen von dem obigen amorphen etwas verschiedenen krystallisirbaren, Chlorophyllfarbstoff.

Litteratur: Molisch (l. c.), Monteverde (Act. hort. petrop., Bd. 13, 1893), Strasburger (Gr. b. Prakt, 3. Aufl.).

Von den die mannigfachen Färbungen der Algen hervorrufenden Farbstoffen, die meist zusammen mit dem Chlorophyll dasselbe verdecken, seien hervorgehoben:

Der gelbe Farbstoff, Phycoxanthin oder Diatomin, der Diatomeen (auch in Phaeophyceen, Oscillaria), leicht löslich in 40%igem Alkohol.

Litteratur: Nebelung (Algen, Bot. Zeit., 1878).

Der braune Farbstoff, Phycophäin der Phäophyceen, ist leicht löslich in Wasser, wenig löslich in verdünntem Alkohl, unlöslich in koncentrirtem Alkohol, Aether, Benzol, fetten Oelen etc. Säuren geben braunen Niederschlag.

Litteratur: Schütt (Ber. d. d. bot. Ges., 1887).

Der rothe Farbstoff, Phycoerythrin, der Floriden ist löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Aether. In gesättigter Lösung erscheint er bei durchfallendem Licht dunkel bläulichroth, bei auffallendem infolge starker Fluorescenz orangegelb. Er kann in der Zelle zum Auskrystallisiren gebracht werden durch Einlegen in 10%ige Kochsalzlöung, der ein paar Tropfen Benzol zugefügt sind. Die Krystalle zeigen eiweissartiges Verhalten. (Farbstoffspeicherung, Gerinnung etc.)

Litteratur: Molisch (Ber. d. d. bot. Ges., 1894).

Der blaue Farbstoff, Phycocyan, der Cyanophyceen, in Wasser löslich (hellblau mit rother Fluorescenz), in Alkohol unlöslich.

Litteratur: Reinke (Pringsheim's Jahrb., Bd. 10).

Das Peridin und Phycopirrin der Peridineen ist gleichfalls unter die chromatophoren Farbstoffe zu zählen.

Litteratur: Schütt (Ber. d. d. bot. Ges., 1890). *Magnus*, Berlin.

Chromatophylie siehe Kernchemie.

Chromgummi von Frenzel als Aufklebemittel empfohlen. Zu einer dünnflüssigen Lösung von Gummi arabicum giebt man eine wässerige Chromalaunlösung im Ueberschuss, reichlich Glycerin und etwas Alkohol. Auf der ganz dünn aufgestrichenen Masse werden die feuchten oder trockenen Paraffinschnitte bei 30—45° aufgelegt und $^1/_4$ Stunde trocknen gelassen. Sie vertragen alle Manipulationen, doch färbt sich die Klebemasse in vielen Farbstoffen mit.

Chromogen, das saure Natriumsalz der Chromotropsäure (Höchst). Hellbraunes Pulver, in Wasser leicht löslich. Durch Oxydation mit Kaliumbichromat entsteht ein echter brauner Farbstoff.

Von Weigert als Reduktionsmittel bei seiner Neurogliafärbung benutzt (siehe Neuroglia).

Chromoplaste siehe Chromatophoren, pflanzliche.

Chromosmiumessigsäure siehe Flemming'sche Flüssigkeit.

Chromsäure, Chromsäureanhydrid, Acidum chromicum, Chromtrioxyd, CrO_3, wurde mikrotechnisch zuerst von Hannover zur Herstellung

mikroskopischer Präparate empfohlen, der seinerseits den ersten Gebrauch auf JACOBSON zurückführte, und bildet seitdem ein für viele Zwecke unentbehrliches Hilfsmittel, besonders im Gemisch mit anderen Agentien. Sie krystallisirt in langen, rothen, rhombischen Nadeln oder Prismen, die sich zu 160% in Wasser mit rothbrauner Farbe lösen. Enthält das Präparat noch von der Darstellung her Schwefelsäure ($K_2 Cr O_3 + H_2 S O_4 = Cr O_3 + H_2 O + K_2 SO_4$), so sehen die Krystalle mehr scharlachfarben aus und zerfliessen an der Luft. Chromtrioxyd ist ein starkes Oxydationsmittel, das organische Stoffe in koncentrirter Lösung zerstört, daher man letztere nicht durch Filtrirpapier filtriren darf. Es wird dabei selbst zu den niederen Oxydationsstufen des Chroms ($Cr_2 O_3$, $Cr(OH)_3$) reducirt: diese fallen sehr häufig aus den Chromsäurelösungen als unlösliche Niederschläge aus, wenn sie mit organischen Substanzen längere Zeit in Berührung stehen oder mit reducirenden Mitteln vermischt werden, z. B. mit Alkohol. Dieser Gesichtspunkt wird bei der Neuerfindung von Chromsäuregemischen häufig übersehen, worauf besonders MAYER (LEE und MAYER) aufmerksam gemacht hat.

Zur Aufbewahrung von Lösungen empfiehlt FOL einen geringen Karbol- oder Kampherzusatz zur Vermeidung des Schimmelns. Zur Fixation wird zumeist eine wässerige Lösung der Chromsäure von geringer Koncentration von $^1/_{10}$—1% gebraucht. Die speciellen Angaben der Autoren hierüber sind sehr verschieden. Vereinzelt finden auch stärkere — 2%ige — Lösungen Anwendung, z. B. von KORSCHELT für Amöben; von MC DOUGALL für quergestreifte Muskelfasern. Sehr hoch stellt sie HANSEMANN, der bei Salamanderlarven die Mitosen durch eine 2%ige Chromsäure ebensogut darstellbar findet, wie durch HERMANN'sche oder FLEMMING'sche Lösung; Kunstprodukte finden sich erst in den inneren Organen infolge des verzögerten Herandiffundirens an die Zellen.

Zur Beschleunigung der Wirkung hat man auch hier zur Kombination des Einlegens der Organe mit der Injektion der Flüssigkeit entweder in die Gefässe oder bei Hohlorganen in deren Binnenraum gegriffen: BELLARMINOW injicirt 0,2—0,3%ige Chromsäure in die Gefässe des Auges; FLEMMING füllt die Harnblase mit $^1/_2$%iger Chromsäure und legt sie dann in die Lösung ein; STILLING und PFITZNER füllen den Magen mit 0,25%iger Lösung, entfernen die Mukosa, lassen ihn noch 2—3 Tage in der Flüssigkeit liegen, und waschen ihn 6—24 Stunden in Wasser aus.

Heisse Chromsäure hat BORN für Amphibieneier zur Fixation verwandt. Er bringt sie in 80—90° warme $^1/_3$%ige Lösung, lässt sie abkühlen und 2 Tage darin liegen. Ihm folgt darin PFISTER; LEVI findet die Temperatur zu hoch, bei 20° seien die Präparate besser färbbar. Auch auf andere Eier ist diese Methode übertragen worden: DEEGENER fixirt Hydrophiluseier in 80—90° warmer $^1/_2$%iger Chromsäurelösung.

Von anderen Autoren wird, zumal für die nervösen Centralorgane, empfohlen mit geringeren Stärkegraden die Behandlung zu beginnen und so die Gewebe zu fixiren, und mit stärkeren Lösungen fortzufahren und darin die Gewebe zu härten. So legt FLEMMING die Schwanzflosse der Salamanderlarven in dünne Chromsäure auf $^1/_2$ Stunde ein, pinselt das Epithel ab, und härtet mit stärkerer Chromsäure nach. BRASS tödtet kleine Thiere und Embryonen in $^1/_8$—$^1/_2$%iger Chromsäure ab und bringt dann einige Tropfen stärkerer Lösung hinzu; in dieser Mischung lässt er sie liegen.

Chromsäure dringt im allgemeinen schwer in die Gewebe ein, so dass je nach der Grösse des Stückes bei der gewöhnlich benutzten schwachen Lösung doch 24—48 Stunden erforderlich sind; daher eilen ihr auch in Gemischen schnell eindringende Komponenten, wie die Essigsäure, weit voraus. Die Chrom-Eiweissverbindungen, die sich rindenartig in den äusseren Objektschichten bilden, behindern oft die weitere Wirkung sehr. Grosse Stücke

Gehirn, Rückenmark bedürfen natürlich vieler Wochen und grosser Flüssigkeitsmengen, da man im allgemeinen auf 1 Ccm. Objekt mindestens 200 Ccm. Lösung rechnet. Vor sehr langem Aufenthalt in Chromsäure ist zu warnen, da erstens die Objekte brüchig werden und zweitens die Entfernung der überschüssigen Lösung erschwert und damit die Färbbarkeit der Objekte beeinträchtigt wird.

Die Nachbehandlung hat neben der Entwässerung den Hauptzweck, die Gewebe zu »entchromen«. Meistens ist von den Autoren angegeben worden, man solle die Chromsäurepräparate lange mit fliessendem Wasser, möglichst bis zur totalen Entfärbung auswaschen. Edinger entfernt, um das lästige lange Wässern zu vermeiden, das Chrom durch Behandlung mit 1 Theil Salpetersäure auf 20 Theile destillirten Wassers, Mayer ebenfalls mit Salpetersäure 1 : 10 Wasser oder mit Schwefelsäure (1 : 20 Wasser) eine Stunde lang. Die Stücke werden hellgraugrün; die Säure wird durch Wasser oder Alkohol entfernt. Unna beseitigt das Chrom mit Wasserstoffsuperoxyd, Gilson durch eine alkoholische Lösung von Schwefeldioxyd, Overton durch eine schwache wässerige Lösung von Schwefeldioxyd, nachdem er das Material kurz in Wasser abgeschwenkt hat, und bringt sie nach wenigen Minuten aus der Säure wieder in reines Wasser.

Sind die Chromsäurereste nicht vollständig aus dem Präparat entfernt, so bilden sich im Alkohol auf der Oberfläche wie im Gewebe selbst störende graugrüne Niederschläge. H. Virchow hat nun gezeigt, dass diese nur bei gleichzeitiger Einwirkung des Lichtes entstehen und sich somit durch Vornahme der Alkoholbehandlung im Dunkeln vermeiden lassen. Der Lichtabschluss verhindert andererseits die Entfernung des überschüssigen Chroms in keiner Weise. Das Chromsäurematerial nimmt mit der Zeit im Alkohol eine schöne hell- bis dunkelgrüne Farbe an. Nach Unna und Solger kann diese Färbung durch Behandlung mit Wasserstoffsuperoxyd leicht und rasch herbeigeführt werden.

Die Chromsäure vereinigt in sehr vollkommener Weise mit der fixirenden zugleich eine erhärtende Einwirkung, welch letzterer sie wie der Alkohol ihre erste Anwendung verdankt. So ist es möglich, Chromsäurematerial, das etwas längere Zeit in der Lösung verweilt hat, als eben zum Fixiren nothwendig ist, mit dem Rasirmesser in brauchbare Schnitte zu zerlegen, ein Verfahren, das sich für Kurszwecke wohl eignet. Der Alkohol dient also hier wie beim Osmiumtetroxyd durchaus nur als Entwässerungs-, nicht als Erhärtungsmittel.

Der erhärtenden Wirkung halber benutzt man auch Chromsäure nach anderen Fixationsmitteln im zweifachen Verfahren, z. B. nach Kaliumbichromat Hierher gehört auch die Nachbehandlung von Präparaten, die mit anderen Agentien fixirt waren, zum Zwecke der Entkalkung (Kazzander) und zur Verbesserung der Färbbarkeit, z. B. bei Osmiumpräparaten nach Flemming, Wisselingh (siehe Osmiumsäure).

Aehnliche Zwecke verfolgt Benda mit seiner sekundären Chromirung für die Darstellung der Sekretgranula, Mitochondria u. s. w., deren Wesen in Nachbehandlung der mit 10%igem Formol fixirten Stücke je einen Tag lang mit 0,25%iger, 0,33%iger und 2—3 Tage mit 0,5%iger Chromsäure besteht, und zwar ohne dazwischengeschobenes Auswässern. Vorfixation durch heisses Wasser (60—70°) unter langsamer Temperatursteigerung und Nachbehandlung mit Chromsäure in ½%igen Lösungen 24 Stunden, Auswaschen und Entwässern ist häufiger benutzt worden, z. B. von Reichenbach für Flusskrebsembryonen.

Für das zweifache Chromsäureverfahren mit voraufgehender Chromsäurebehandlung hat Pfitzner gezeigt, dass nachfolgender Aufenthalt von solchem Material in Kaliumbichromat oder Müller'scher Lösung alle protoplasmatischen und chromatischen Strukturen deutlich hervortreten lässt, während

das Achromatin optisch nicht differenzirt ist. DOSTOIEWSKI verfuhr in dieser Weise bei der Untersuchung der Iris und des Corpus ciliare: 24—28 Stunden Fixation in 2—3%iger Chromsäure, dann tage- bis monatelange Nachbehandlung mit MÜLLER'scher Lösung. Auch Pikrinsäure ist zur Nachbehandlung von Chromsäurepräparaten herangezogen worden. KORSCHELT wäscht jüngere Cephalopodenembryonen nach Fixation in 0,2%iger Chromsäure mit Pikrinsäure aus.

Für einzelne specielle Zwecke ist die Entfernung des Chroms nicht erwünscht; die Nachbehandlung verkürzt dementsprechend die Wässerung bis auf ein starkes Abspülen. Hier muss besonders genau auf die Erfüllung der H. VIRCHOW'schen Vorschrift der Dunkelbehandlung achtgegeben werden. Nachbehandlung mit Alaun hat HENCHMANN für das Gehirn von Limax marinus und seiner Embryonen angegeben: Fixation in $^1/_3$%iger Chromsäure 2—3 Minuten lang, Behandlung mit Wasser nebst einigen Tropfen Chromsäure, dann mit reinem Wasser 5 Minuten lang; darauf halbstündige Nachbehandlung mit 5%iger Alaunlösung, an die sich Wässerung und Entwässerung anschliessen.

Die Präparate werden bei Chromsäurebehandlung, besonders bei etwas zu lange ausgedehnter Behandlung leicht brüchig: man muss daher besonders bei zarten Objekten, Keimscheiben, Entstehen starker Diffusionsströmung (bei Ueberführen aus Alkohol in Chloroform z. B.) zu vermeiden suchen. Manche Theile werden bei der Behandlung mit Chromsäure unschneidbar hart. z. B. Dotter, daher man auf seine Beseitigung z. B. aus dem Dottersack der Teleostier aufs sorgsamste bedacht sein muss; denn hier hilft auch die beste Einbettung nichts. Glycerinzusatz zur Fixationslösung, der das Brüchigwerden verhindern soll, nützt nach FOL gar nichts.

Bei der Bearbeitung der fertigen Schnitte kann die Entfernung der lästigen grauen Niederschläge infolge mangelhafter Beseitigung des Chromüberschusses durch Behandlung mit Cyankalium nachgeholt werden. Schnitte von Chromsäurematerial müssen mit Eiweissglycerin und Wasser auf den Objektträger aufgeklebt werden; sie zeigen sonst die Neigung, zumal bei alkalischer Reaktion der verwendeten Färbe- und Differenzirungsflüssigkeiten, sich vom Objektträger abzulösen. Chrompräparate sind der schlechten Färbbarkeit der Kerne halber allgemein berüchtigt; zum Theil mag dies allerdings an ungenügender Entchromung liegen. FISCHER stellt die Chromsäure nur zu seinen partiellen Farbfeinden; seine Tabelle aber lehrt. dass gerade gegen unsere mit am häufigsten benutzten Kernfarbstoffe sich das Chromsäurematerial ablehnend verhält. MAYER empfiehlt die Behandlung der Schnitte mit gewöhnlichem Salzsäure-Alkohol, indem sie rasch ihre graubraungrüne Farbe verlieren, weiss werden und sich mit allen üblichen Mitteln vorzüglich färben sollen. Die einzige Färbemethode, die auch nach Chromsäurefixation niemals versagt, ist die Eisenalaunhämatoxylinfärbung (W. MÜLLER). RENAUT hat ein Glycerin-Eosin und -Hämatoxylin zur Färbung der Chromsäurepräparate besonders angegeben.

Von den durch FISCHER untersuchten Eiweissstoffen fällt 0.5%ige Chromsäure nur die echten Peptone nicht in wasserunlöslicher Form aus, wird aber von alkalischer Reaktion merklich gehemmt. Nach FOL tritt die Unlöslichkeit dieser Körper bei Lichtzutritt schon in Sekunden ein. Die zahlreichen Klagen über Kunstprodukte durch Chromsäurefixation führt FISCHER auf diese ausserordentliche Fällungskraft zurück und belegt diese Deutung mit zahlreichen Beispielen körniger oder fadenförmiger Gerinnungen im histiologischen Bilde. Schon FOL hatte darauf hingewiesen, dass im natürlichen Objekt flüssige Substanzen durch Chromsäure in Fadenform ausfallen können. Ein treffliches Beispiel bilden die von TELLYESNICZKY beobachteten bacillenförmigen Schollen im Cytoplasma der rothen Blutzellen. Auch KULTSCHITZKY

schildert einen gewebeähnlichen Niederschlag in Chromsäurepräparaten: sie bringt geradezu ein neues Strukturbild ins Gewebe hinein. Im übrigen wird nach TELLYESNICZKY und WASIELEWSKI das Cytoplasma zerstört; der Kern erscheint in Pflanzenzellen »kontrahirt«. Der erstere klagt insbesondere wie FLEMMING über die ungleiche Wirkung der Chromsäure bei gleicher Koncentration auf das gleiche Objekt und stimmt keineswegs der Empfehlung als ausgezeichnetes Fixationsmittel durch RAWITZ bei. Auf die mitotische Figur insbesondere wirkt Chromsäure derart, dass die einzelnen Chromatinfäden etwas schwellen (SCHOTTLÄNDER), daher die ganze Figur eine etwas plumpe Gestalt annimmt. SCHENK findet überdies die Mitosen weniger zahlreich (?) als bei Anwendung anderer Fixationsmittel. Im Gegensatz hierzu steht die Schrumpfung, welche die Objekte nur allzu häufig im ganzen, aber auch in ihren einzelnen Theilen durch Chromsäure erleiden; als gutes Beispiel dienen die Injektionsmassenschrumpfungen, die AIGNER geschildert hat. Diese Schrumpfwirkung kann unter Umständen aber auch von Nutzen sein. Die Keimscheiben zeigen deutlich abgegrenzte Keimblätter, die Bilder von einzelnen Kanälen treten durch sie deutlicher hervor. Die Schrumpfung kann bis zu einem gewissen Grade durch Vermischung mit quellenden Agentien, wie Essigsäure, beseitigt werden. Eine Nebenwirkung, der man sich oft zugleich mit der Fixation durch Chromsäure bedient hat, ist die Entkalkung, die dem Charakter des Mittels als schwache Säure entsprechend sehr milde verläuft und daher für zarte Objekte recht angebracht ist: so für embryonale Knochen (LESER), Zähne, kleine Echinodermen (HAMANN). Auch die entkalkende Wirkung der MÜLLER'schen Lösung beruht auf ihrem Gehalt und der ständig vor sich gehenden Abspaltung von Chromsäure.

In mikrochemischer Hinsicht hat die Chromsäure besondere Wichtigkeit durch die Verbindungen erlangt, die sie mit dem Myelin der Nervenfasern eingeht und der die intensive Färbreaktion des Nervenmarks bei der WEIGERT-PAL'schen Methode zu danken ist. Ferner ist sie nebst ihren Salzen bei der Unterscheidung der neutralen Fette, des Lecithins und bei der Untersuchung der Gewebe auf Gehalt an phäochromen Zellen (Sympathicus, Nebenniere, Karotisdrüse) wichtig geworden (s. Nebenniere). Nach WASIELEWSKI färbt sich in Chromsäurepräparaten Stärke blau.

Chromsäure für sich allein ist heute für histiologische Zwecke wohl gänzlich verlassen; sie erweist sich dagegen sehr brauchbar für die Darstellung und photographische Wiedergabe sehr zarter Oberflächenbilder, z. B. von jungen Keimscheiben, auf denen die feinsten Einzelheiten ausserordentlich schön hervortreten. Dieser ausgezeichneten makroskopischen Konservirungsfähigkeit verdankt sie auch ihre Einführung in die anatomische Technik durch JACOBSON (1832).

Chromsäuregemische. Chromsäure und Alkohol gehört zu der Kategorie der oben erwähnten, leicht veränderlichen Fixationsmittel: PRITCHARD fixirt Retina in Chromsäure 1, Wasser 20, 84%igem Alkohol 180.

KLEIN empfiehlt für Zellenstudien ein Gemisch von 1/6%iger Chromsäure 2, 90%igem Alkohol 1.

STOWELL bereitet zur Fixation eine Lösung von 1/6%iger Chromsäure 1, Alkohol absol. 2, stets frisch, fixirt darin 8—10 Tage und erneuert es am zweiten Tage.

LO BIANCO fixirt manche Seethiere in gleichen Theilen 1%iger Chromsäure und 70%igem Alkohol.

WASIELEWSKI findet die Fixation der Pflanzenzelle in alkoholischer Chromsäurelösung nur mittelgut, das Plasma dünn, die Spindel schlecht erhalten.

Chromsäure und Formol benützt BRAUS bei der Golgidarstellung der Gallenkapillaren: Formol 1, 1/3%ige Chromsäure 3.

Nach LEE und MAYER verwendet LO BIANCO ein Gemisch von Formol 1, 1%iger Chromsäure 10, Seewasser 9, für weiche Salpen ½—1 Stunde lang; dann kommen die Thiere in steigenden Alkohol.

Chromsäure mit Alkohol und Formol. MARINA legt das Centralnervensystem 4—8 Tage in ein täglich gewechseltes frisches Gemisch von 90%igem Alkohol 100, Formol 5, Chromsäure 0,1. Auswaschen in 45%igem Alkohol, Schneiden in 90%igem Alkohol.

Chromsäure und Kaliumbichromat. Nach LEE und MAYER beschleunigt ein Zusatz von 1—2 Ccm. einer 1%igen Chromsäurelösung auf je 30 Ccm. des Kaliumbichromats die Härtung besonders der nervösen Centralorgane ohne zu schaden.

Chromsäure mit Säuren: Chromsäure und Ameisensäure nach RABL: möglichst kleine Stückchen bleiben 12—24 Stunden in ⅓%iger Chromsäure 100 Ccm., Ameisensäure 2—3 Tropfen, werden ebensolange mit Wasser, dann mit 60—70%igem Alkohol behandelt und gelangen dann in absoluten Alkohol. Die chromatische Figur quillt etwas bei dieser Fixation. Im übrigen gleicht nach TELLYESNICZKY ihre Wirkung der bei weitem verbreiteteren Chromessigsäure. WASIELEWSKI erklärt die Fixation des botanischen Objekts für mässig. Nach SCHOTTLÄNDER liefert sie von der chromatischen Substanz bessere Bilder als Chromsäure allein, wenn man 3 bis 4 Stunden fixirt, 12—24 Stunden wässert und je 24 Stunden mit 60%igem und absolutem Alkohol behandelt. Dann soll sie der Chromessigsäure oder der FLEMMING'schen Lösung nicht nachstehen. Sie ist auch für specielle Zwecke zuweilen besonders angegeben worden: z. B. von MEAD für Embryonen mariner Anneliden, von PETERS für das Corneaepithel u. a.

Chromsäure und Essigsäure ist eines der wichtigsten einfach sauren Fixirgemische. Nach FLEMMING besteht es aus Chromsäure 2,0 bis 2,5 Grm., Eisessig 1 Ccm. und 1000 Ccm. Wasser. Die Stücke, etwa von 0,5 Ccm. Inhalt, kommen auf 24 Stunden hinein, wässern 24 Stunden aus und gelangen auf je 12 Stunden in steigenden Alkohol. TELLYESNICZKY findet das Plasma mangelhaft, aber besser als durch reine Chromsäure fixirt; Kerne und Mitosen sind gut erhalten und treten scharf hervor. Nach WASIELEWSKI bewährt sie sich am Pflanzenobjekt noch schlechter: die Spindelfasern sind oft nicht deutlich. Neben diesem Fixationsgemisch, das sehr häufig zugleich zum Studium von Oberflächenbildern in der embryologischen Technik dient (z. B. HENNEBERG bei der Entwicklung der Mammarorgane) existiren eine grosse Anzahl anderer Gemische, die sich sowohl im Chromsäure- als im Eisessiggehalt unterscheiden.

LO BIANCO hat zwei derartige Gemische angegeben: seine Chromessigsäure Nr. 1 besteht aus 50%iger Essigsäure 1, 1%iger Chromsäure 20. Jetzt soll er ihr nach LEE und MAYER (pag. 34) den doppelten Essigsäuregehalt geben. Sie eignet sich für Cephalopoden, Copepoden, Stomatopoden (GIESBRECHT nach LEE und MAYER, pag. 429). Chromessigsäure Nr. 2 setzt sich zusammen aus 50%iger Essigsäure 100, 1%iger Chromsäure 10.

FOL nimmt 1%ige Chromsäure 15, 2%ige Essigsäure 50, Wasser 25.

EHLERS (LEE und MAYER, pag. 34) benützt Chromsäure ½—1 Grm., Wasser 100, Eisessig 1—5 Tropfen.

HERTWIG konservirte Froscheier und -Embryonen in einer 1%igen Chromsäure mit Zusatz von 0,2% Essigsäure.

ARNOLD empfiehlt für abweichende Mitosen in der Milz: Chromsäure 0,3, Essigsäure 0,5, Aqua destillata 100,0 als rascher und vollständiger eindringendes Gemisch: 24 Stunden in 10—15 Ccm. davon, dann Alkoholbehandlung im Dunkeln.

CZERMAK fixirt die Darmwand in $^1/_4$%iger Chromsäure 99, Eisessig 1 $^1/_2$ Stunde, dann $^1/_3$%ige Chromsäure 12—24 Stunden, Auswaschen und Entwässern in Alkohol 35—100,0%.

FICK benützt für Axolotleier innerhalb der Hüllen 1%ige Chromsäure 25 Ccm., Eisessig 0,1 Ccm., Wasser 25 Ccm. 24 Stunden, trennt die Gallerte sodann ab; 24 Stunden wässern, Entwässern.

DEMARBAIX benützt für Riesenzellen des Knochenmarks 24 Stunden lange Fixation in 1%iger Chromsäure 14, Wasser 18, Eisessig 1. 24 Stunden wässern, Alkoholbehandlung.

FELIX benützt für Hühnerembryonen Chromsäure 2,5, Eisessig 1, Wasser 100.

ZIMMERMANN verwendet für Knochenfischflossen zum Pigmentzellstudium 0,25 Grm. Chromsäure in Seewasser 100, Eisessig 5, pinselt dann das Epithel ab und bringt sie in reine 0,25%ige Chromsäure oder in HERMANN's Lösung.

FAUSSEK fixirt die Cephalopodeneier mit 1%iger Chromsäure 100 mit 5 Tropfen Eisessig.

Heisse Chromsäure mit Essigsäure: BARFURTH überträgt die BORN'sche (pag. 134) Methode der Hitzefixation für Amphibieneier auf die Anwendung der FLEMMING'schen Chromessigsäure.

Chromsäure, Essigsäure und Alkohol nach LAVDOWSKY besteht aus 0,5%iger Essigsäure 100, 2%iger Chromsäure 10, 95%igem Alkohol 10 und findet für das Studium von Kernstrukturen Anwendung.

Chromsäure mit Essigsäure und Formol: RETTERER fixirt embryonale Knochen 6—12 Stunden mit 3%iger Chromsäure 66, Formol 33, Essigsäure 8, wäscht aus und entwässert.

Chromsäure und Salzsäure benützt CALVET für Bryozoen in folgenden Zusammensetzungen: $^1/_3$%ige Chromsäure 100, 3%ige Salzsäure 1 und $^1/_5$%ige Chromsäure 100, 5%ige Salzsäure 1. Dieses Gemisch wird auch häufig zum Entkalken benützt.

Chromsäure mit Schwermetallsalzen. In ihrer Fixationswirkung müssen in dieser Kategorie die Gemische ohne und mit Säurezusatz getrennt werden.

Chromsäure mit Osmiumsäure und alle von dieser Kombination abgeleiteten Gemische siehe bei Osmiumsäure und FLEMMING'sche Flüssigkeit.

Chromsäure mit Platinchlorid oder MERKEL's Gemisch: Platinchlorid, Chromsäure aa. 1 Grm. oder 2 Grm., Wasser 800 Ccm. Fixationsdauer 3—4 Tage; Nachbehandlung mit Alkohol. Dieses Gemisch ist von MERKEL zuerst für die Retina, später aber vielfach für ganz allgemeine Fixationszwecke empfohlen worden. WASIELEWSKI rühmt die Reinlichkeit der mit ihm erhaltenen Präparate: das Plasma schrumpfe nicht, doch werde ein Theil gelöst. EISIG fixirt 5 Stunden kleine Capitelliden in MERKEL's Gemisch zum Studium der Seitenorgane. Er hat als Modifikation folgende Zusammensetzung angegeben: gleiche Theile $^1/_4$%igen Platinchlorids und 1%iger Chromsäure. Hierin fixirt WHITMAN Froscheier 1—2 Tage lang, WENCKEBACH pelagische Fischeier nach AGASSIZ und WHITMAN.

Saure Chromsäure-Platinchloridgemische: BRASS fixirt Protozoen in Chromsäure, Essigsäure, Platinchlorid aa. 1, Wasser 400—1000. Die passende Verdünnung muss jedesmal ausprobirt werden. FLEMMING empfiehlt dies Gemisch in starker Koncentration für die Theilung der Spermatocyten, ARNOLD für Wanderzellen.

LAVDOWSKY benützt für Kernstrukturen 5%igen Eisessig 100, 1%ige Chromsäure 10, 1%iges Platinchlorid 5.

Chromsäure mit Eisenchlorid und Essigsäure nach Guignard: auf 100 Ccm. Wasser, 0,5 Grm. Eisenchlorid und 2 Grm. Eisessig zur Fixation von Wasserpflanzenembryonen behufs Darstellung der Centralkörper.

Chromsäure mit Sublimat siehe Sublimat.

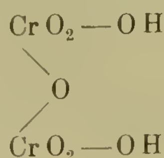
Chromsäure mit Ammoniummolybdat siehe Altmann'sche Granula-Methoden:

Litteratur: Hannover (Arch. Anat., 1840), Korschelt (Zool. Anz., Jahrg. 5, 1882), Mc Dougall (Journ. of Anat. Phys., Bd. 31, 1897), Hansemann (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1890), Bellarminow (Anat. Anz., Bd. 3, 1888), Flemming (Arch. mikr. Anat, Bd. 34, 1889), Stilling und Pfitzner (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), Born (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), Pfister (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Levi (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), Deegener (Zeit. wiss. Zool., Bd. 68, 1900), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), Brass (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1. 1884), Edinger (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Mayer (Lee und Mayer, Grundzüge), Unna (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887), Gilson (cit. n. Lee und Mayer), Overton (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), H. Virchow (Arch. Mikr. Anat., Bd. 24, 1889), Unna (Mon. prakt. Dermat., 1883), Solger (Centr. med. Wiss., 1883), Henchmann (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 20, 1890), Kazzander (Anat. Anz., Bd. 16, 1900), Benda (Arch. Phys., 1900), Reichenbach (Abh. Senckenberg. Ges., Bd. 14, 1886), Pfitzner (Morph. Jahrb., Bd. 11, 1885), Dostoiewsky (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), Korschelt (Fest. f. Leukardt, 1892), Fol (Lehrbuch, pag. 98), Fischer (Protoplasma, pag. 85), W. Müller (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), Renaut (Arch. de Phys., Jahrg. 13, 1881), Fischer (Protoplasma, pag. 21), Fol (Lehrbuch, pag. 97), Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Kultschitzky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Flemming (Zellsubstanz, Kern- uud Zelltheilung. Leipzig, 1882), Rawitz (Leitfaden, 1895), Schottländer (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), Schenk (Inaug.-Diss. Bonn 1890), Aigner (Sitz. Akad. Wien, Bd. 108, Abth. 3, 1899), Leser (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), Hamann (Jena. Zeit. Naturw., Bd. 21, 1887), Pritchard (Quart. Journ. Mikr. Soc. [2], Bd. 13, 1873), Klein (Quart. Journ Mikr. Soc. [2], Bd. 18, 1878), Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Stowell (The Microscope, Vol. 4, 1884), Lo Bianco (Mitth. Zool. St. Neapel. Bd. 9, 1890), Braus (Denkschr. Med. Nat. Ges. Jena, Bd. 5, 1896), Lee und Mayer (Grundzüge, pag. 66), Marina (Riv. Pat. Nerv. Ment. Firenze, Bd. 2, 1897, Neur. Centr., Jg. 16, 1897), Lee und Mayer (Grundzüge, pag. 350), Rabl (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), Schottländer (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), Mead (Journ. Morph., Bd. 13, 1897), Peters (Arch. mikr. Anat., Bd. 33, 1889), Flemming (Zelle, 1882, pag. 382), Henneberg (Anat. Hefte. Heft 41, 1899), Lo Bianco (Mitth. Zool St. Neapel, Bd. 9, 1890), Fol (Lehrbuch, pag. 99), Hertwig (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892), Arnold (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888), Czermak (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), Fick (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), Demarbaix (Cellule, Bd. 5, 1889), Felix (Fest. f. Nägeli und Kölliker, 1891), Zimmermann (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), Faussek (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 14, 1900), Barfurth (Anat. Hefte, H. 9, 1894), Lavdowsky (Anat. Hefte, Bd. 4, 1894), Retterer (Journ. de l'Anat., Jahrg. 36, 1900), Calvet (Contr. Hist. Nat. Bryoz. Ectopr. Mar. Montpellier 1900, pag. 15), Graf (Contrib. Path. Inst. New York State Hosp., Bd 1/2, 1898), Crampton (Journ. Morph., Bd. 15, Suppl. 1899), Merkel (Macula lutea, 1870, pag. 19; Mitth. Zool. Station Neapel, 1881), Eisig (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 1, 1878), Whitman (Methods, pag. 152), Wenckebach (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), Agassiz und Whitman (Proc. Amer. Ac. Arts, Bd. 20, 1884), Brass (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1887), Arnold (Arch. mikr. Anat., Bd. 30), Lavdowsky (Anat. Hefte, Bd. 4, 1894), Guignard (Ann. Bot., 8. ser. VI. 1898).

Poll, Berlin.

Chromsaure Salze, Chromate, sind die früher nächst dem Alkohol am häufigsten benützten und auch heute noch in ihren Gemischen für die Untersuchung z. B. des Centralnervensystems unersetzbaren Fixationsmittel. Jacobson (citirt nach Tellyesniczky) verwandte zuerst das Kaliummonochromat, Heinrich Müller zuerst das Kaliumbichromat, das auch heute noch unbestritten den ersten Platz unter allen Chromaten behauptet.

Die Trennung der Chromate in Monochromate und Bichromate führt leicht zu irrigen Vorstellungen über den Bau dieser Salze: Bichromate in dem Sinne, als seien sie die sauren oder primären Salze der Chromsäure, sind in Wirklichkeit nicht bekannt; die Bichromate sind die Salze der Dichromsäure, $Cr_2\,O_7\,H_2$ oder



die nur in der Form eben dieser Salze vorkommt. Die Monochromate sind dagegen die neutralen, sekundären Salze der Chromsäure. Ausser der Dichromsäure giebt es noch andere Polychromsäuren, die ebenso durch H_2O-Austritt aus entsprechend vielen Chromsäuremolekülen entstanden zu denken sind. Die Ueberführung von Chromaten in Polychromate gelingt leicht bei Einwirkung von Säuren, die Polychromate gehen durch Alkalibehandlung in die Chromate über. Diese Umsetzungen sind für die Beurtheilung der Chromatgemische von Bedeutung. Die Chromate sind heller, meist gelb, die Polychromate dunkler, meist rothbraun gefärbt.

Das Kaliumbichromat, gewöhnlich rothes oder saures (siehe oben) chromsaures Kali genannt, krystallisirt in grossen rothen, triklinischen Prismen, die sich bei Zimmertemperatur in Wasser etwa im Verhältniss von 1 : 10 lösen. Was die Koncentration und die Zeitdauer der Fixation betrifft, so verwendet man es in der Mikrotechnik in etwa 2—5%iger wässeriger Lösung, und dabei gilt die Regel, dass man im allgemeinen mit schwächerem — 2% — Stärkegrad beginnt und zum höheren — 5% — ansteigt. Kaliumbichromat wirkt langsam: die Flüssigkeit muss mehrmals gewechselt werden, und dabei geschieht der Ersatz der schwachen durch stärkere Lösung. Stets hat ein Wechsel der Flüssigkeit, ob gleicher, ob stärkerer Koncentration, stattzufinden, wenn sich in der Flüssigkeit Niederschläge gebildet haben: dies tritt in den ersten Tagen sehr schnell, später nur noch selten ein. Der Gebrauch des reinen Bichromats ist ziemlich selten geworden. Die übliche Anwendungsform ist die der MÜLLER'schen Flüssigkeit, die HEINRICH MÜLLER angab: Kaliumbichromat 2—2,5 Grm., Natrium sulfuricum 1 Grm., Wasser 100 Ccm. Hierbei fällt die Steigerung des Stärkegrades natürlich fort, über den Wechsel der Flüssigkeit bleibt die oben aufgestellte Regel bestehen.

Die Kaliumbichromatlösungen vereinen mit der fixirenden auch erhärtende Wirkung, aber in erheblich geringerem Grade als die Chromsäure. Beabsichtigt man daher eine Erhärtung, so bedarf es wochen-, ja monatelanger Behandlung. Für das Gehirn des Menschen braucht man 1/4 bis 1/2 Jahr, für das Rückenmark etwa 2 Monate. Die Objekte ins Dunkle zu stellen, ist nicht unbedingt nothwendig, indessen bilden sich dann in der That die störenden Niederschläge erst später und spärlicher als bei der Belichtung, so dass man mit etwas seltenerem Wechseln der Flüssigkeiten auskommt. Nach LEE und MAYER soll man die Chromate kalt stellen, um die Zersetzung zu vermeiden, wenn man mit ihnen fixirt. Auch SAHLI empfahl als beste Methode für das Centralnervensystem 3—4%iges Kaliumbichromat in der Kälte.

In der Hitze verläuft die Chromsalzfixation bedeutend schneller als bei Zimmertemperatur, so dass man bei diesem Verfahren die Zeitdauer der Fixation bedeutend abkürzen kann. WEIGERT hat darauf nachdrücklich hingewiesen; mit MÜLLER'scher Lösung erreicht man bei 39—40° C. mit 8 bis 10 Tagen eine Wirkung wie mit 6 Wochen in der Zimmertemperatur.

Auch für manche Gemische, wie Formol-MÜLLER'sche Lösung (WOLFF) und die TELLYESNICZKY'sche Flüssigkeit (s. unten pag. 146), ist die Fixation in der Wärme angegeben worden.

Nach SAHLI härten die Chromate in der Hitze schlechter. Dies bestätigt auch MINOT. OBERSTEINER fixirt die nervösen Centralorgane 1 bis 2 Wochen bei 35—45° in 1%igem Kaliumbichromat, dann weiter 4 bis 6 Wochen bei gewöhnlicher Temperatur und bringt sie dabei in 2—3%ige Lösung.

Die Nachbehandlung ist sowohl beim reinen Bichromat als bei der MÜLLER'schen Flüssigkeit nach denselben Grundsätzen zu regeln wie bei der Chromsäure; die sehr lange unbequeme Wässerung ist ebenso wie dort durch

Alkoholbehandlung im Dunkeln nach H. Virchow ersetzbar, so dass man meist mit gründlichem Abspülen in Wasser auskommt. Natürlich wird man grosse Objekte, bei denen es nicht, wie beim Centralnervensystem, auf Erhaltung des Chromgehalts ankommt, schon um Alkohol zu sparen, gründlich wässern.

In Kaliumbichromatlösungen mittlerer Koncentration und in Müller'scher Lösung lassen sich Objekte, die man nicht sogleich weiter verarbeiten will, besonders die nervösen Centralorgane, sehr lange aufbewahren: man muss nur entsprechend die Wasser- oder Alkoholbehandlung länger ausdehnen oder zu den nicht immer empfehlenswerthen Entchromungsmitteln greifen, wenn die Gewebe mit den gewöhnlichen Färbungen behandelt werden sollen.

Die Einbettung, Aufklebung und Entfernung etwaiger Niederschläge aus den Schnitten hat nach denselben Regeln wie bei der Chromsäure zu erfolgen.

So gut direkt aus dem Chromsalz kommende Schnitte sich z. B. mit Ammoniakkarmin färben lassen, selbst wenn die Objekte ein Jahr lang in der Lösung gelegen haben, wie Wiedersheim berichtet, so sehr beeinträchtigt die Alkoholbehandlung die gute Färbbarkeit.

Merkel hat als Beize das Chlorpalladium (1 : 300—600 Wasser) angegeben; darin bleiben die Schnitte, bis sie sich gelb färben, werden dann abgespült und nunmehr gefärbt. Obersteiner färbt die Chromsalzschnitte in Karmin in einem Uhrglas über kochendem Wasser. Elise Wolff empfiehlt zur besseren Kernfärbung mit Alkohol entwässerter Müller-Präparate mit Hämatoxylin einen Zusatz von so viel 5%iger Oxalsäure, dass die Farbe nicht ins Röthliche umschlägt. Für einzelne Färbeverfahren, abgesehen von den der Markscheiden, ist die Fixation in Chromsalzen erwünscht oder sogar vorgeschrieben, so für viele Färbungsmethoden der elastischen Fasern.

Die übrigen Bichromate und die Monochromate treten an Wichtigkeit gegen das Kaliumsalz bei weitem zurück.

Ammoniumbichromat hat zuerst Gerlach (citirt nach R. Heidenhain) für das Studium der nervösen Centralorgane benützt: für diesen Zweck findet es auch heute noch zuweilen Verwendung. Die 0.5—0,1%ige Lösung ist von H. Schultze mit bestem Erfolg für Nervenzellen der Wirbellosen gebraucht worden; während es, wie die Chromsalze überhaupt, für cytologische Studien an Wirbelthiernervenzellen in Misskredit gerathen ist. Nach Rawitz bewirkt es in 0,1%iger Lösung Schrumpfungen und Veränderungen der Gewebe. Dennoch wird es hin und wieder z. B. von Duval für die nervösen Centralorgane in 2,5%iger Lösung angewandt: nach 2—4 Tagen wechseln, nach 2—3 Wochen Chromsäure 3 : 1000, eine Woche lang alle Tage wechseln, dann bis zur Mitte des zweiten Monats alle 8 Tage; zwei Monate darin liegen lassen mit etwas Kampherzusatz.

Nach Lee und Mayer soll man das Ammoniumsalz etwa in der halben Stärke des Kaliumsalzes zur Fixation des Centralnervensystems verwenden, sonst genau in der gleichen Weise; für das Kleinhirn kann man bis zu 5%igen Lösungen gehen.

Natriumbichromat ist nach Hosch für die Golgimethode (s. diese) benutzt worden, ebenso Lithiumbichromat nach Strong.

Die Wirkungsweise des Kaliumbichromats, auf das sich naturgemäss die meisten Angaben in der Litteratur beziehen, und der Müller'schen Lösung ist von vielen Seiten, vor allem von Flemming gleichgesetzt worden; und der Aeusserungen sind viele, die dem geringfügigen Gehalt an Glaubersalz, das, für sich angewandt, z. B. jede Kernstruktur zerstört (Burchardt), keine Veränderung des Charakters der Lösung beimessen (Schiefferdecker). Pfitzner deutet schon auf die Nothwendigkeit des Natrium sulfuricum hin. Fischer erblickt seine Aufgabe, wie Lee und Henneguy, in der langsamen,

stetigen Chromsäureabspaltung. Histologisch muss man die Wirkung des Bichromates auf Kern und auf den Zellkörper trennen.

Auerbach lieferte den Nachweis, wie verschieden die differenten Stärkegrade der Bichromatlösung auf die Kerne wirken, wobei in der Reihe Quellung und Erhärtung miteinander abwechseln. Flemming hat nachdrücklich auf die unberechenbare Unregelmässigkeit der mit Kaliumbichromat erhaltenen Kernbilder hingewiesen, die man bei verschiedenem, aber auch bei gleichem Objekt mit der gleichen Koncentration erhält. Burchardt hat zur Bestätigung dieses Satzes noch weiter Litteraturangaben gesammelt (Mayzel, Carnoy), der im grossen und ganzen auch für die Müller'sche Lösung gilt. Im ruhenden Kerne liefert das Bichromat nach Flemming »Zerrbilder« durch Verschwinden des natürlichen Netzwerks und Auftreten von neuen unnatürlichen »Chromsalznetzen«; die Mitose verunstaltet es durch Verklumpung der Chromatins und Achromatins; er gelangt schliesslich (1880) zu der völligen Verdammung der Chromsalze für das Studium der Mitose und ihm stimmen eine grosse Anzahl von Autoren zu (Carnoy, Pfitzner, Barfurth, Rawitz). Frank Schwarz hat die einzelnen Zellenkernbestandtheile einer Prüfung bezüglich ihres Verhaltens gegen koncentrirte Bichromatlösung unterworfen und findet das Chromatin unlöslich; das Linin (Gerüstsubstanz), das Paralinin (Zwischensubstanz) stark quellend; Pyrenin (Nukleolen) partiell löslich; Amphipyrenin (Kernmembran) unlöslich. Auf das Schwinden der Nukleolen wies bereits Flemming (1882) hin; Pfitzner (1885) führte das Kernbild nach Behandlung mit Müller'scher Lösung auf die Fixirung des Achromatins zurück, während das Chromatin unter Vakuolenbildung stark verändert und aufgelöst werde. Nach Fischer fällt Kaliumbichromat unter keiner Bedingung Pepton, Nukleïn, Nukleïnsäure; nur aus saurer Lösung Albumose, Albumine, Globuline, Nukleoalbumine: Hämoglobin wird stets gefällt.

Burchardt hat dem Verhalten der Bichromate zum Zellenkern eine ausführliche Arbeit gewidmet, der wir hier meist gefolgt sind. Er kommt zu dem Resultat, dass das K-, Cs-, Rb-, Na-, Li-, NH_4-, Mg-, Sr-, Zn Salz die Kernstruktur zerstören; und zwar alle in gleicher Weise: »Die Kerne sind zu einer homogenen Blase verwandelt und lassen auch nach der Färbung keine chromatischen Klumpen hervortreten« (Löwit). Durch den Zusatz von Natriumsulfat wird diese Wirkung abgeschwächt; ersetzt man es durch Magnesiumsulfat, so wird der Kern ebenso homogen, aber färbt sich leicht und stark mit Hämatoxylin (Burchardt). Diese Wirkung ist gleichartig, aber nicht gleich stark bei allen Bichromaten. Das Ca-, Ba-, Cu-Salz erhalten dagegen den chromatischen Antheil der Kernstruktur, ähnlich wie die Chromsäure, nur mit dem Unterschiede, dass diese auch das Achromatin fixirt. Er kommt auf Grund weiterer hier nicht zu referirender Ueberlegungen und Versuche schliesslich zur Konstruktion von brauchbar fixirenden Bichromatgemischen und gelangt zu dem Schluss, dass den Bichromaten zwei antagonistisch in Bezug auf das histiologische Resultat wirkende fixirende Eigenschaften eignen, deren eine die geformten, die andere die ungeformten Zellkernbestandtheile angreift: nach dem Verhältniss dieser beiden ihnen zukommenden antagonistischen Eigenschaften lassen sich die Bichromate wahrscheinlich in eine kontinuirliche Reihe (Na, NH_4, K, ... Zn, Cu, Ca, Ba) ordnen.

Die cytologische Hauptbedeutung der Chromsalze liegt in ihrer besonders von Tellyesniczky und Wasielewski betonten ausgezeichneten Plasmaerhaltung, die allerdings nicht allen Bichromaten in gleicher Weise eigen ist, dem Kalisalz aber in hervorragendem Grade zukommt. Auch die Zellkörperderivate, wie Bindegewebsfibrillen (Lewoff), fixirt es ausgezeichnet, ferner das Hämoglobin, so dass es als Fixationsmittel für die Erythrocyten-

entwicklung mehrfach gedient hat (SMIECHOWSKI, BANNWARTH). In diese Kategorie gehört auch die Fixation des phaeochromhaltigen Zellenleibes der Nebennierenmarkzellen, der diesen ähnlichen Zellen im Sympathicus und der Karotidendrüse, welche von den Chromsalzen unter Bräunung des Zellkörpers unlöslich niedergeschlagen werden; während alle übrigen Fixationsmittel mit Ausnahme der Osmiumsäure ihn sofort zerstören und nur Spuren des Zellleibes zurücklassen. Einige paraplasmatische Stoffe werden aufgelöst, wie das Eleïdin, nach DREYSEL und OPPLER, und der Schleim wird gerüstförmig ausgefällt.

Da wir ausser dem Kaliumbichromat nur noch die theure und unbequeme Osmiumsäure als plasmafixirendes Mittel besitzen und der mangelhaften Kernfixation durch Vermischung mit anderen, schon ganz einfachen Mitteln, wie der Essigsäure nach TELLYESNICZKY abgeholfen werden kann, so verdienen die Chromsalze die ihnen heutzutage für histiologische Zwecke entgegengebrachte Verachtung in diesem Masse sicherlich nicht. Als geschätzte Nebenwirkung kommt für die Chromsalze ihre erhärtende Eigenschaft wohl in Betracht, der sie ihre Einführung in die Technik verdanken. Ferner für die MÜLLER'sche Lösung die milde entkalkende Wirkung, die auf ihrem Gehalt an Chromsäure beruht.

Die Hauptbedeutung der Chromsalze liegt heute auf dem Gebiete der Untersuchung des centralen und auch des peripherischen Nervensystems: fast alle Gemische und die Einführung neuer, vorher noch nicht gebrauchter Salze zielen auf die Verbesserung und Erleichterung der Nervensystemchromirung ab. Daneben sind noch die Chromsalze ebenso wie die Chromsäure für die Phaeochromreaktion des Gewebes der sympathischen Ganglien (KOSE 3%iges Kal. bichr. 9, Formol 1 oder reines 3%iges Kal. bichr.), der Marksubstanz der Nebenniere (STILLING 10%iges Formol 100; Kal. bichr. 2.5—3 HULTGREN, ANDERSSON: MÜLLER'sche Flüssigkeit 100, Formol 4 oder Alkohol 40, 5%iges Monochromat 50, Formol 10) und der Karotisdrüse in Gebrauch (SCHAPER: MÜLLER'sche Lösung, 3%iges Kalium- oder Ammoniumbichromat, KOHN: Formol 1; Kaliumbichromat 9). Näheres siehe bei Nebenniere.

Die zweifachen Chromsalzverfahren, bei denen der Fixation in einem anderen Agens die Nachbehandlung mit Chromsalzen, und zwar meistens mit reinem Bichromat in wechselnder Koncentration oder mit MÜLLER'scher Lösung folgt, nützen neben der guten Fixation des Zellenleibes und den übrigen den Chromsalzen specifischen Wirkungen (Markscheiden, phaeochrome Zellen) noch zwei weitere Vortheile aus: erstens die gute Nachhärtung der Gewebe ohne Alkoholbehandlung, zweitens die Möglichkeit, ohne die Nachtheile längerer Alkoholbehandlung Material fast beliebig lange aufbewahren zu können. Sehr verbreitet ist der Gebrauch, den Fixationslösungen aus Chromsalzgemischen oder aus Chromsäuregemischen eine längere Chromsalznachbehandlung folgen zu lassen; ganz allgemein ist dies Verfahren bei den Chrom-Formalingemischen üblich: z. B. fixirt MÖLLER die Magenschleimhaut im Gemisch von KOPSCH und behandelt mehrere Tage mit MÜLLER'scher Lösung nach. SIEMERLING fixirt nervöse Centralorgane in ORTH's Gemisch und lässt ebenfalls MÜLLER'sche Lösung folgen. REGAUD empfiehlt, die in der TELLYESNICKY'schen Lösung fixirten Präparate mit Kaliumbichromat nachzubehandeln. MIHALKOVICS wendet nach der ZENKER'schen Lösung (siehe Sublimat) MÜLLER's Flüssigkeit an, um Jodalkohol zu vermeiden, der den Strukturen schädlich sei. PFITZNER (1885) giebt an, dass die Chromsäurefixation mit Nachbehandlung mittels Kaliumbichromat oder MÜLLER-scher Lösung alle protoplasmatischen und chromatischen Substanzen deutlich darstelle, die achromatischen seien aber nicht optisch differenzirt. Diese Kombination wirke ebenso wie Kaliumbichromatfixation und Nach-

behandlung mit Osmiumsäure. DOSTOIEWSKY fixirt z. B. das Corpus cil. und die Iris 24—48 Stunden in 2- oder 3%iger Chromsäure und legt sie dann auf Tage bis Monate in MÜLLER'sche Lösung.

Zur besonderen Methode wurde die sekundäre Anwendung bei den Verfahren ausgebildet, die die Chromsalznachbehandlung einer Fixation in ganz anders zusammengesetzten Fixationsmitteln folgen lassen. Die älteste hieher gehörige Methode scheint die Nachbehandlung von Alkoholpräparaten des Centralnervensystems gewesen zu sein: Nach LEWIS fixirt man dieses erst 24 Stunden in 70—80%igem Alkohol und lässt dann erst die übliche Chrombehandlung folgen. TEDESCHI empfiehlt Fixation des Myokards in absolutem Alkohol, dann 8 Tage lange Nachbehandlung mit MÜLLER'scher Lösung bei 40°, die täglich gewechselt und eventuell halb mit Wasser verdünnt wird. LESER giebt für Ossifikationspräparate Fixation in absolutem Alkohol oder 0,2—0,4%iger Chromsäure an, Nachbehandlung statt mit steigendem Alkohol mit MÜLLER'scher Lösung. BETZ benützt für das Centralnervensystem 10 Tage lange Fixation in Jodalkohol, dann Behandlung mit 3%igem Kaliumbichromat so lange, bis sich ein brauner Niederschlag bildet; es folgt Auswaschen in Wasser und Aufbewahren in 1/2—1%igem Kalium bichromicum. MASON (citirt nach WHITMAN) empfiehlt für Reptilien- und Amphibiengehirne 3%iges Kaliumbichromat zur Nachbehandlung nach 6—12 Stunden langer Jodalkohol-Fixation. Dauer 6—10 Wochen; alle 14 Tage wechseln.

Nach Fixation in reinem Formol wendet GEROTA das Kaliumbichromat an. 1. Nervensystem in 5—10%igem Formol 1 Woche, 2. 3—5 Tage in 4%igem Kaliumbichromat; ähnlich MARCUS nach 2—4 Wochen langer Fixation in 1/2%igem Formol 1 Woche lang Behandlung mit MÜLLER'scher Lösung bei 37°.

BENDA hat für specielle Zwecke eine sekundäre Chromirung nach Salpetersäurefixation ausgearbeitet, die von vielen anderen bereits benützt und empfohlen worden ist, so von P. SCHULTZ für die Giftdrüsen der Kröten und Salamander, von HENNEBERG für Oberflächenbilder von Embryonen, von ANGELUCCI für die Netzhaut und das Centralnervensystem.

Ueber die Nachbehandlung von Osmiumpräparaten mit Chromsalzen siehe bei Osmiumsäure.

BIGELOW empfiehlt für Scyphistomen von Cassiopeia nach Fixation im Sublimat-Kupfersulfatgemisch von LO BIANCO Nachbehandlung mit 5%igem Kaliumbichromat, Auswaschen in 35%igem Salpetersäure-Alkohol, Konserviren in 70%igem Alkohol.

Monochromate: Das Kaliummonochromat ist selten zur Fixation benutzt worden; häufiger bei den Versilberungsmethoden. Das Ammoniumsalz ist früher in der mikroskopischen Technik oft verwendet worden, z. B. in den Arbeiten von EIMER, HEIDENHAIN. HEIDENHAIN hat für die Niere das Ammoniummonochromat in 5%iger Lösung zum Studium der Glomeruli an Zerzupfungspräparaten, aber auch an Schnitten benutzt, die nach Auswaschen und Alkoholentwässerung gewonnen waren. MAC CARTHY legt Spinalganglien 3 Wochen in 2%ige Lösung und wechselt 2—3mal. KLEIN wendet es für die Untersuchung von Kernstrukturen am Tritonmagen u. a. Objekten in 5%iger Lösung 24 Stunden an und zerzupft nach 1/2stündigem Wässern und Färbung mit Pikrokarmin, Glycerineinschluss. v. D. STRICHT verwendet für den hyalinen Knorpel 5%ige Lösung von neutralem chromsaurem Ammoniak 24 Stunden lang für 1—2 Cm. grosse Stücke; andere lässt er bis 10 Tage darin.

Chromsalzgemische. Die MÜLLER'sche Lösung, das am häufigsten gebrauchte Chromsalzgemisch, ist oben bereits besprochen worden. RÜHLE hat für die Niere eine MÜLLER'sche Flüssigkeit angegeben, die statt 2,5 Grm. Kaliumbichromat 5,0 Grm. enthält.

Die sauren Chromsalzgemische stehen allen anderen an Bedeutung voran. Kaliumbichromat mit Essigsäure nach TELLYESNICZKY: Kaliumbichromat 3 Grm., Essigsäure 5 Ccm., Wasser 100. Die Zusammensetzung und Anwendung ist nicht an eine heikle Vorschrift gebunden. Kleinere Stücke bleiben 1—2 Tage, grössere länger darin. Auswaschen in reichlichem Wasser; steigende, mit 15% anfangende Alkoholbehandlung. Dieses Gemisch ist von vielen Seiten bereits erprobt und brauchbar befunden worden. REGAUD empfiehlt nach der TELLYESNICZKY'schen Lösung für Rattenhoden einige Tage bis Wochen Nachbehandlung mit 3%igem Kaliumbichromat. NETTOVICH fixirt Argulus in 50° warmer TELLYESNICZKY'scher Lösung.

Kaliumbichromat und Chromsäure: LEE und MAYER empfehlen für die Fixation des Centralnervensystems den Zusatz von 1—2 Ccm. 1%iger Chromsäurelösung zu je 30 Ccm. Kaliumbichromat zur Beschleunigung der Härtung.

Kaliumbichromat, Baryumbichromat, Essigsäure nach BURCHARDT: 4%iges Baryumbichromat oder Calciumbichromat 2, 5%iges Kaliumbichromat 6, Eisessig 1. Statt des Baryumbichromat kann 4%iges Calciumbichromat oder 6%iges Kupferbichromat angewendet werden. Diese Kombination ergiebt die beste Fixation der chromatischen Figur. Ersetzt man die 4%ige Baryumbichromatlösung durch 1%ige Chromsäure, so wird auch das Achromatin fixirt. Ferner giebt BURCHARDT als brauchbare Mittel an: 6%iges Cuprum bichromicum 60, 5%iges Kalium bichromicum 30, Acidum aceticum glaciale 5.

Brauchbare Resultate, abgesehen von der fehlenden Achromatinfixation, ergeben ferner: 4%iges Calcium oder Baryum bichromicum oder 6%iges Cuprum bichromicum 60, Platinchlorid (1 : 1500) 40, Eisessig 5; oder 2%iges Calcium bichromicum 60, 0,3%iges Platinchlorid 30, Eisessig 5; oder 1%iges Calcium bichromicum 60, 1%iges Platinchlorid 30, Eisessig 5; oder 2%iges Calcium bichromicum 60, 1%iges Sublimat 30, Eisessig 5.

Kaliumbichromat und Kupfersulfat nach ERLICKI: Kaliumbichromat 2,5 Grm., Kupfersulfat 0,5 Grm., Wasser 100 Ccm. Fixationsdauer: 1 bis 5 Tage bis Wochen, Wässern 1—2 Stunden, Entwässerung. Bei 39—40° fixirt nach WEIGERT die ERLICKI'schen Lösung selbst grosse Stücke in etwa 4 Tagen. LEE und MAYER und ebenso KINGSBURY geben 1 Grm. Kupfersulfat statt 0,5 Grm. an. FOL hält die ERLICKI'sche Flüssigkeit für eines der zweckdienlichsten Fixirmittel. Sie wirkt in der That schneller als das MÜLLER'sche Gemisch. Zur Beseitigung der Niederschläge, die die Erlickipräparate oft verunzieren, behandelt EDINGER mit warmen oder mit salzsäurehaltigem Wasser, TSCHIRSCH und LÖWENTHAL mit 0,5%iger Chromsäure, und zwar entweder die Stücke oder die Schnitte. GRAUPNER bringt zur intensiven Gelbfärbung der Markscheiden die Stücke aus MÜLLER's noch auf kurze Zeit in ERLICKI's Gemisch.

MONTI imprägnirt die Nervenzellen in brauner Farbe mit einem Gemisch von Kupfersulfat und Kaliumbichromat.

ERLICKI'sches Gemisch mit Essigsäure erwähnt AIGNER unter anderen Flüssigkeiten für die Fixation des Nebenhodens: ERLICKI'sche Lösung 100, Eisessig 1.

Kaliumbichromat, Kupfersulfat, Formol benützt KENYON für das Bienengehirn: 10%iges Kalium bichr. 40, 5%iges Kupfersulfat 40, Formol 20. Einige Stunden fixiren, Auswaschen, Entwässern. Kaliumbichromat kann auch fortgelassen werden, auch kann man nur in Formol fixiren und das Kupfersulfat auf die Schnitte wirken lassen.

Kaliumbichromat, Essigsäure, Cuprum sulfuricum, Alkohol nach KULTSCHITZKY: 50% Alkohol, Kaliumbichromat, Kupfersulfat (ad libitum bis zur Sättigung). Auf 100 Ccm. vor dem Gebrauch Eisessig 5—6 Tropfen.

Hierin wird 12—24 Stunden im Dunkeln fixirt, Auswaschen in Alkohol, Entwässern. Diese Mischung hat KULTSCHITZKY für Neuroglia, BOHEMANN für die Darstellung der Intercellularbrücken der glatten Muskelfasern empfohlen. Eine sehr ausgedehnte Anwendung hat dieses Gemisch nicht gefunden.

Kaliumbichromat mit essigsaurem Natrium nach LAVDOWSKY: Fixation 4—7 Tage lang in Wasser 100, Kaliumbichromat 3, essigsaures Natrium 2. Dieses Gemisch ist empfehlenswerth als nahezu neutrales Fixationsmittel für Kernstrukturen. Die Kombination mit Osmiumsäure siehe dort.

Kaliumbichromat und Formol. Gemische von Kaliumbichromat oder MÜLLER'scher Lösung mit Formol erfreuen sich in der jüngsten Zeit grosser Beliebtheit; sie vereinigen die schnelle und für gröbere Zwecke auch brauchbare Fixirung durch Formol mit den vielen guten Eigenschaften, die dem Chromsalzmaterial eignen: besonders für die nervösen Centralorgane, in der pathologisch-anatomischen Technik, aber auch alle übrigen Organe werden darin fixirt. Die übliche Fixationsdauer ist im allgemeinen mehrere Tage; häufig behandelt man die Objekte mit reinem Bichromat oder mit reiner MÜLLER'scher Lösung nach; wäscht dann aus und entwässert. Nach RABL ist das Gemisch für feinere Kernstrukturen ein schlechtes Fixationsmittel. Immerhin ist es auch für feinere Zwecke häufig angewendet worden: E. MÜLLER fixirt für Neurogliastudien an niederen Wirbelthieren in 3%igem Kaliumbichromat 1, Formol 4, MÖLLER die Darmschleimhaut 24 Stunden in 3%igem Kaliumbichromat 40, Formol 10, behandelt darauf 3—4 Tage lang mit 3%igem Kaliumbichromat nach und wäscht 3 Stunden lang aus. KOSE stellt die »chromaffinen« Elemente der Nebenniere und des Sympathicus mit 3%igem Kaliumbichromat 9, Formol 1 dar und findet die Zellen besser fixirt als mit 3%igem Kaliumbichromat allein, dagegen ist die Chromfärbung nicht so ausgeprägt. Mit der gleichen Lösung behandelt KOHN die Carotisdrüse. STILLING benutzt zum gleichen Zwecke neben ZENKER'scher Lösung 10%iges Formol 100 Ccm., Kaliumbichromat 2,5—3,0 Grm. und färbt die Elemente mit Hämatoxylin-Eisenalaun. HULTGREN und ANDERSSON erwähnen auch neben ihrem Monochromatgemisch für die Nebennierenfixation als brauchbar eine Zusammenstellung von MÜLLER'scher Lösung 100, Formol 4.

Das Gemisch von MÜLLER'scher Flüssigkeit mit Formol ist zuerst von ORTH in grösserem Massstabe angewandt worden, und zwar im Verhältniss von MÜLLER'scher Lösung 10, Formol 1, und als »MÜLLER-Formol« besonders im Kreise der pathologischen Anatomen im ausgiebigsten Gebrauch. Nach der Fixation folgt Auswaschen, bis das Wasser nicht mehr gefärbt ist, und die Alkoholbehandlung. Abgesehen von der grossen Bequemlichkeit der Methode, die nach nöthigenfalls mehrmaligem Wechsel ein nahezu unbegrenztes Aufbewahren des Materials in MÜLLER'scher Lösung gestattet, soll sie sich sogar auch für feinere Zellstrukturen, sogar für Mitosen als brauchbar erwiesen haben. SCHREIBER benützt für die Epithelkörperchen ein Gemisch aus gleichen Theilen Formol und MÜLLER'scher Flüssigkeit und lässt unmittelbar die Alkoholbehandlung folgen. BRAUS fixirt die Leber zur Darstellung der Gallenkapillaren in Formol 1, MÜLLER'sche Lösung 3; dann folgt die Golgimethode.

MÜLLER'sche Flüssigkeit und Alkohol nach HAMILTON für das Centralnervensystem: man bringt es in ein abgekühltes Gemisch von MÜLLER'scher Lösung 3, 90%igem denaturiertem Alkohol 1 und stellt das Gefäss in den Eisschrank, nach 2—3 Tagen wird die Flüssigkeit gewechselt und sobald sie genug eingedrungen ist, durch Ammoniumbichromat 1 : 400, nach je 1 Woche durch 1%iges und 2%iges Ammoniumbichromat ersetzt. Aufbewahrt wird das Material in Chloralhydrat 1 : 40.

Kaliumbichromat und Aldehyd nach VASSALE und DONAGGIO für die Golgimethode 1 Ccm. grosse Stücke in Aldehyd 5, 3—4%iges Kalium-

bichromat 100, 15—20 Tage, wenn sie dunkel wird, wechseln. Dann folgt die Golgimethode.

Kaliumbichromat-Chromsäure-Salpetersäure nach KOLLMANN: Kaliumbichromat 5 Grm., Chromsäure 2 Grm., Salpetersäure 2 Ccm., Wasser 100. Empfohlen für Salmonideneier: 12 Stunden, Auswaschen in Wasser 12 Stunden, Entfernung der Hüllen, 70%iger Alkohol.

Mono-bichromatgemische: COX benützt für die Golgiimprägnation 5%iges Kalium bichromicum 10, Sublimat 10, 5%iges Kaliummonochromat 8, Wasser 15—20 Zur gleichzeitigen Härtung und Imprägnation. Die Stücke kommen auf 2—3 Monate hinein.

Monochromatgemische. Für die Nebenniere benutzen HULTGREN und ANDERSSON: 5%iges Kaliummonochromat 50, Alkohol absolutus 40, Formol 10. Diese Fixation giebt besonders mit der Eisenhämatoxylinfärbung nach HEIDENHAIN sehr gute Resultate. Die phäochromen Zellen nehmen eine hellgelbe Farbe an. Für die einzelnen Thierklassen soll man das Verhältniss des Monochromats und des Formols ändern. Auch eine 2%ige Formolbeimengung giebt brauchbare Resultate. Nachbehandlung: 70%iger Alkohol.

Die Kombinationen von Chromsalzen mit Sublimat, mit Osmiumsäure siehe dort. Vergleiche auch die Artikel Goldmethoden, Golgimethode, Maceration und ALTMANN'sche Granulamethoden.

Litteratur: TELLYESNICZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), H. MÜLLER (Verh. Phys. med. Ges. Würzburg, Bd. 18, 1859 und Gesammelte und hinterlassene Schriften, Bd. 1, 1859), SAHLI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), WEIGERT (Centr. med. Wiss., 20. Jahrg. 1882), WOLFF (Arch. klin. Chir., Bd. 59, 1899), MINOT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), OBERSTEINER (Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane, 3. Aufl., 1896), H. VIRCHOW (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1885), WIEDERSHEIM (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1890), MERKEL (HENLE's Handbuch der Anatomie, 1871), ELISE WOLFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), R. HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1873), H. SCHULTZE (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), RAWITZ (Jena. Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), DUVAL (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 12, 1896), HOSCH (Arch. Ophthal., Bd. 41, 1895). STRONG (New York Ac. Sc., Bd. 13, 1895), FLEMMING (Zellsubstanz, Zellkern etc., pag. 107, 1882), BURCHARDT (Cellule, Bd. 12, 1897). SCHIEFFERDECKER (Mikroskop, pag. 152), PFITZNER (Morph. Jahrb., 1885, Bd. 11), FISCHER (Protoplasma, pag. 15), LEE & HENNEGUY (2. Aufl. 1896, pag. 44), AUERBACH (Organologische Studien, 1874, pag. 37 ff.), FLEMMING (VIRCH. Arch. 1879, Bd. 77; Arch. mikr. Anat., Bd. 18, 1880), CARNOY (Biologie Cellul., pag. 210), PFITZNER (Morph. Jahrb., 1880), BARFURTH (Arch. mikr. Anat., 1891, Bd. 37), RAWITZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895), FRANK SCHWARZ (Beitr. z. Biol. d. Pflanz., 1892, Bd. 5), LÖWIT (Beitr. Path. Anat., 1891, Bd. 10), WASIELEWSKI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), LEWOFF (Sitz.-Akad. Wien. Abth. 3, Bd. 98, 1899), SMIECHOWSKI (Inaug.-Diss., Dorpat 1892), BANNWARTH (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), DREYSEL und OPPLER (Arch. Derm. Syph., Bd. 30, 1895), KOSE (Sitz. deut. Naturw. Med. Vereines Lotos. Prag 1898), STILLING (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), HULTGREN - ANDERSSON (Skand. Arch. Phys., 9. Bd., 1899), SCHAPER (Arch. mikr. Anat., Bd. 40, 1892), KOHN (Arch. mikr. Anat., Bd. 65, 1900), MÜLLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 64, 1898), SIEMERLING (Neur. Centr., 18 Jg., 1899), REGAUD (Arch. d'anat. micr., Bd. 4, 1901), MIHALKOVICS (Anat. Hefte, 34, 35, 1898), DOSTOIEWSKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), LEWIS (Human brain, pag. 102), TEDESCHI (Att. Real. Acc. Fisiocr. Siena [4], Bd. 9), LESER (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), BETZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 9, 1893), WHITMAN (Methods, pag. 196). GEROTA (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 13, 1893), MARCUS (Neur. Centr., Bd. 14, 1895), MARTINOTTI (Comm. R. Acc. Med. Torino, 1888), BIGELOW (Mem. Bost. Soc., Bd. 5, 1900), EIMER (Arch. mikr. Anat., 1871, 1872, 1875, 1877), HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1873), MAC CARTHY (Quart. Journ. Micr. Sc. [2], Vol. 15, 1875). KLEIN (Quart. Journ. Micr. Sc. [2], Vol. 18, 1878; Vol. 19, 1879), v. D. STRICHT (Arch. biol., Bd. 7, 1886), RÜHLE (Arch. Phys., 1897). REGAUD (Arch. d'Anat micr., Bd. 4, 1901), NETTOVICH (Arb. Zool. Inst. Wien, Bd. 13, 1900), ERLICKI (Warschau. med. Zeitschr., 22. Jg., Nr. 15. Progrès médical 1877), WEIGERT (Centr. med. Wiss., 20. Jg., 1882), KINGSBURY (Proc. amer. Micr. Soc., 1894). FOL (Lehrbuch, pag. 106), EDINGER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), TSCHIRSCH (VIRCH. Arch., 97. Bd., 1884), LÖWENTHAL (Recueil Zool. Suisse, Bd. 4, 1886, Rev. méd. Suisse Romande, 5. Jahrg.), GRAUPNER (Beitr. path. Anat., 1898, Bd. 24), AIGNER (Sitz. Ak. Wien, Bd. 109, 1900). KENYON (Journ. Comp. Neur., Bd. 6, 1896), KULTSCHITZKY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887 und Anat. Anz., Bd. 8, 1893), BOHEMANN (Anat. Anz., Bd 10, 1894), LAVDOWSKY (Anat. Hefte, Bd. 4, 1894), RABL (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1899), E. MÜLLER (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), MÖLLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 66, 1899), KOSE (Sitz. deutsch. naturw. Verein Lotos, Prag 1898, Nr. 6), KOHN (Arch. mikr. Anat., Bd. 65, 1900), STILLING (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), ORTH (Berl. klin. Woch., 1896), SCHREIBER (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), BRAUS (Denk. med. nat. Ges. Jena, Bd. 5, 1896), HAMILTON (Journ. Anat. Phys., Vol. 12, 1878), VASSALE

und Donaggio (Monit. Zool. ital., Jahrg. 6, 1893), Kollmann (Arch. Anat. 1885), Cox (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891). *Poll*, Berlin.

Die chromsauren Salze werden in der technischen Färberei, besonders ausgedehnt in der Wollfärberei als Beizen benutzt, da sich das Chromsalz auf der Baumwollfaser weniger gut fixiren lässt. Die Wolle wird einfach in einem Bad von Kaliumbichromat und Schwefelsäure gekocht, ausgewaschen und dann in das Färbebad gebracht. Von denjenigen Farbstoffen, welche mit Chromsalzen lichtechte Lacke liefern, spielt das Hämateïn, der Farbstoff des Blauholzes, die grösste Rolle. Die Farbe dieser Lacke schwankt zwischen Blau und Schwarz. Aber auch für Rothholz, Krapp, Gelbholz, Quercitron und manche Anilinfarbstoffe liefern die chromsauren Salze werthvolle Beizen.

In der mikroskopischen Färberei hat man von der erwähnten Eigenschaft der Chromate ausgedehnten Gebrauch gemacht, und zwar auch hier wieder hauptsächlich in Verbindung mit Hämatoxylin. Näheres siehe bei Hämatoxylin und Nervenfasern (Markscheiden).

Chromsilbermethode siehe Golgimethode.

Chrysamin G. Disazofarbstoff, Natriumsalz der Benzidin-Disazo-Bisalicylsäure (Elberfeld, Berlin). Gelbbraunes, in Wasser schwer lösliches Pulver. In Schwefelsäure mit rothvioletter Farbe löslich. Die wässerige Lösung giebt mit Salz- oder Essigsäure braune Fällung, mit Natronlauge rothbraune Färbung.

Chrysaureïn. Syn. Orange II. Monazofarbstoff. Natriumsalz des Sulfanilsäure Azo-β-Naphtols, $(SO_3\,Na)\,C_6\,H_4\,.\,N:N\,.\,C_{10}\,H_6\,(O\,H)$ (Ludwigshafen). Gelbrothes, in Wasser und Alkohol lösliches Pulver, in Schwefelsäure mit rother Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge dunkelbraun, mit Salzsäure entsteht ein gelbbrauner Niederschlag.

Chryseolin. Syn. für Chrysoin.

Chrysoidin. Monazofarbstoff. Salzsaures Diamidoazobenzol. $C_6\,H_5\,.\,N:N\,.\,C_6\,H_3\,(N\,H_2)_2\,.\,H\,Cl$ (Berlin, Ludwigshafen, Elberfeld). Rothbraunes krystallinisches Pulver oder schwarze Krystalle, die in Wasser und Alkohol mit brauner Farbe löslich sind. In Schwefelsäure braune Lösung, die beim Verdünnen kirschroth wird. Salzsäure oder Natronlauge bringen in der wässerigen Lösung einen braunen Niederschlag hervor.

In der technischen Färberei vielfach zum Orangefärben von Baumwolle benutzt. Die letztere wird vorher mit Tannin und Brechweinstein gebeizt.

Chrysoin. Syn. Akmegelb, Goldgelb, Resorcingelb, Tropaeolin O, Natriumsalz des Sulfanilsäure-Azo-Resorcins, $(SO_3\,Na)\,C_6\,H_5\,.\,N:N\,.\,C_6\,H_3\,.\,(O\,H)_2$ (Ludwigshafen). Braunes Pulver, das in Wasser mit gelbrother Farbe löslich ist, die Lösung färbt sich mit Natronlauge mehr braun. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich.

Chrysolin. Pyroninfarbstoff französischer Provenienz. Natriumsalz des Benzylfluorescins. Rothbraunes, in Wasser und Alkohol mit brauner Farbe lösliches Pulver. Die Lösung fluorescirt und giebt mit Natronlauge braunen Niederschlag. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich.

Chrysophansäure, $C_{14}\,H_5\,O_2\,C\,H_3\,(O\,H)_2$. Zur Chinongruppe gehörig, in Flechten (Physcia parietina) und Wurzeln (von Polygonaceen), färbt sich mit Kalilauge purpurroth, mit Kalkwasser etwa nach einem Tage. Ueber die Unterschiede zwischen den sonstigen in Pflanzen vorkommenden Chinonen (Emodin, Nucine) siehe Zimmermann (Bot. Mikrotechnik, pag. 85).

Litteratur: Schwan (Cohn's Beitr., Bd. 3). *Magnus*, Berlin.

Chrysophenin, Disazofarbstoff, der bei Aethylirung des Brillantgelbs entsteht (Berlin, Elberfeld). Orangegelbes, in Wasser schwer lösliches Pulver. Mit Natronlauge Gelbfärbung, mit Salzsäure brauner Niederschlag. In Schwefelsäure mit rothvioletter Farbe löslich.

Ciliarkörper siehe Sehorgan.

Ciliata siehe Protozoa.

Cilien der Algen. Zur Fixirung werden empfohlen: Osmiumsäuredämpfe oder auch 1%ige Osmiumsäure, 1%ige Chromsäure oder Jodjodkaliumlösung. ZIMMERMANN (Bot. Mikrotechnik, pag. 209). Sonst ist aber wohl die bei dem Nachweis der Bakteriengeisseln übliche Methode zu verwenden. (LÖFFLER'sche Beizungsmethode, modificiert von FISCHER.) Zum Studium der Insertionsstellen der Cilien bei Schwärmsporen der Algen (Vaucheria Oedogonium etc.) hat sich Fixirung mit FLEMMING's Flüssigkeit oder GUIGNARD's Chromsäure-Eisenchlorid-Eisessig und nach sehr vorsichtiger Einbettung Mikrotomschnitte von 1—2 μ gefärbt mit FLEMMING's Dreifarbengemisch bewährt.

Litteratur: STRASBURGER, Ueber Reduktionstheilung, Spindelbildung, Centrosomen und Cilienbildner im Pflanzenreich. Hist. Beitr., H. 6. Jena 1900), A. FISCHER (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 26 u. 27, 1894 u. 1895. *Magnus*, Berlin.

Cilienbildner (Blepharoplasten) siehe Centrosomen in Pflanzenzellen.

Cirkulation des Protoplasmas siehe Protoplasmaströmung.

Citronensäure, Acidum citricum, $C_6 H_8 O_7 = C_3 H_4 (OH) (C OO H)_3$, findet sich in freiem Zustande im Pflanzenreiche sehr verbreitet. Farblose, durchscheinende, rhombische Prismen vom spec. Gew. 1,54. Löslich in $^3/_4$ Theilen kalten Wassers. 100 Theile Weingeist von 80% lösen bei 15° 87 Theile krystallisirte Citronensäure; 100 Theile Alkohol von 90% bei 15° 52,8 Theile; 100 Theile absoluten Alkohols 75,9 Theile. 100 Theile Aether lösen $2^1/_4$ Theile wasserfreier Citronensäure.

Citronensäure hat Verwendung gefunden zur Konservirung von Infusorien von CATTANEO, bei der Präparation der Nerven von Selachiern von PAUL MAYER, von demselben beim Verfolgen feiner mit Berlinerblau injicirter Gefässe, von UNNA bei der Färbung der Mikroorganismen im Horngewebe.

Litteratur: CATTANEO (Boll. scient., 1883), PAUL MAYER (Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. 6, 1886, und Bd. 8, 1888), UNNA (Monat. prakt. Dermat., Bd. 13, 1891). *Mosse*, Berlin.

Citronensaft. Der frisch ausgepresste und filtrirte Saft von Citrus medica, limonum und bergamia (am besten sind etwas unreife Früchte) enthält neben freier Citronensäure noch citronensaures Kalium und Calcium.

Der Citronensaft wird in der Mikrotechnik hauptsächlich nach dem Vorgang von RANVIER zur Vorbehandlung bei der Vergoldung benutzt. Die in ihm enthaltene Citronensäure lässt dabei das Bindegewebe stark aufquellen und macht es durchscheinend. (Näheres siehe Goldmethoden.)

Auch zum Abtödten von kleinen Wirbellosen, wie Hirudineen und Anneliden, ist er von LEE empfohlen worden.

Cocaïn, $C_{17} H_{21} N O_4$, ist das bekannteste der in den Blättern von Erythroxylon Coca vorkommenden Alkaloide, das sich indess nur höchstens bis 1% in diesen Blättern findet. Es wird aus der wässerigen Lösung seiner Salze durch Ammoniak oder Soda gefällt. Dieser Niederschlag löst sich wieder auf Zusatz von Wasser; aus dieser Lösung scheiden sich kleine, glänzende Nadeln von wasserfreiem Cocaïn ab. Schmelzpunkt bei 98°. Cocaïn ist in Wasser schwer löslich und zwar löst sich ein Theil in 704 Theilen Wasser bei 12°, in 1300 Theilen kalten Wassers; in Alkohol und Chloro-

form ist es leicht, noch leichter in Aether löslich. Die Lösungen haben einen bitteren Geschmack und reagiren alkalisch.

Das in der Technik und in der praktischen Medicin verwandte salzsaure Salz, das Cocainum hydrochloricum, bildet glänzende Prismen. Es löst sich in 0,75 Theilen Wasser und krystallisirt aus dieser Lösung mit zwei Theilen Krystallwasser. Es bildet mit Sublimat einen weissen, in Alkohol löslichen Niederschlag.

Das Cocainum hydrochloricum hat bisher Verwendung gefunden u. a. beim Studium des Einflusses äusserer Agentien auf den Befruchtungs- und Theilungsvorgang des thierischen Eies von den Gebrüdern HERTWIG, von deren Schüler SCHÜRMAYER beim Studium des Einflusses äusserer Agentien auf einzellige Wesen, von v. LENDENFELD bei experimentellen Studien über die Physiologie der Spongien (Vergiftungsversuche u. a. mit Cocaïn). Hauptsächlich aber wird es zum Betäuben niederer Thiere, auch von Larven benutzt (von RICHARD, WEBER, CORI, ROBERT, PIZON, KORSCHELT, ROUSSELET, CONSER, MEISENHEIMER, ZOGRAF, EISIG, LO BIANCO); von ROBERT im besondern zur Beobachtung lebender Rotatorien.

Litteratur: CONSER (Trans. Amer. Micr. Soc, Vol. 17, 1896), CORI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. VI, 1889), EISIG (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 13, 1898), O. und R. HERTWIG (Jen. Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), KORSCHELT (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1893), v. LENDENFELD (Zeit. wiss. Zool., Bd. 48, 1889), MEISENHEIMER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 62, 1896), PIZON (Annal. Sc. Nat., Bd. 14, 1893), RICHARD (Zool. Anz., 8. Jahrg., 1885), ROBERT (Bull. scient. France Belgique, Bd. 22, 1890), ROUSSELET (Journ. Queck. Micr. Club, Bd. 6, 1895), SCHÜRMAYER (Jen. Zeit. Natur., Bd. 24, 1890), WEBER (Arch. Biol., Bd. 8, 1888). ZOGRAF (Compt. rend., Bd. 124, 1897).

Mosse, Berlin.

Coccidien siehe Parasiten, thierische.

Cochenille (Coccionella). Die Drogue, welche diesen Handelsnamen führt, besteht aus den getrockneten Weibchen der Cochenilleblattlaus, des Coccus cacti coccinelliferi L., welche wie andere Vertreter dieser Familie einen rothen Farbstoff enthalten. Das Insekt ist in Mexiko heimisch und lebt namentlich auf Cactus opuntia.

Schon von den alten Mexikanern ward es kultivirt, nach der Eroberung Mexikos durch die Spanier die Kultur monopolisirt und die Ausfuhr des lebenden Insektes verboten; gleichwohl aber ward es bald in andere Gegenden verpflanzt: nach Westindien, Peru, Brasilien, den Kanaren, Algier, Südspanien und Sicilien, ferner nach Java und den Philippinen.

Das viel kleinere, zierliche Männchen ist geflügelt und lebt nur circa 1 Monat. Ungefähr 200—300mal so häufig ist das bedeutend grössere Weibchen. Es ist oval, dick angeschwollen, dunkelroth, mit weissem Filz bedeckt und lebt 6 Wochen. Die Jungen sind sehr klein, zuerst unbeweglich; schon nach einem Tage beginnen sie behende auf der Pflanze umherzulaufen. Mit zunehmender Grösse werden sie unbeweglicher und setzen sich, ausgewachsen, auf der Ostseite der Kaktuspflanzen fest. Kurz vor dem Eierlegen werden die Weibchen auf Tücher gestrichen, mit Dampf, Hitze oder auch durch Insolation getötet und getrocknet.

Man unterscheidet die wilde oder Feldcochenille, die aber auch kultivirt wird, indes weniger Farbstoff enthält, von der Kulturrasse.

Von den Handelssorten gilt die von Mesticha in Honduras, Grana fina mestica genannt, für die beste, und zwar die erste Ernte, die Zaccatilla. Sie ist besonders grosskörnig und wird nach ihrer Färbung als silbergraue, schwarze, röthliche und braune (Zaccatilla) unterschieden.

Die kleinkörnige unechte (wilde) Cochenille, Campechiana oder Granilla genannt, ebenso Cochenillestaub und die in $^1/_2$ Cm. dicke, harte Kuchen gepresste Kuchencochenille enthalten oft nur die halbe Farbstoffmenge und sind somit minderwerthig.

Die silbergraue Hondurascochenille wird vielfach durch Zusatz pulverisirter Mineralien, wie Talk, Schwerspath, Kreide, verfälscht; dem ist die

schwarze Zaccatilla nicht ausgesetzt, weshalb sie als das zuverlässigste Ausgangsmaterial gelten kann.

Die trockenen Insekten sind 3—5 Mm. lang, 2—4 Mm. breit, flachkonvex mit gleichmässigen Querrunzeln, der Segmentirung des Thierchens entsprechend, wenig riechend und von etwas bitterem Geschmack.

Gute Honduraseochenille enthält nach LIEBERMANN 9—10%, eine sehr gute 14% Farbstoff, Karminsäurederivate, vorwiegend karminsaures Alkali, jedenfalls nicht eine chemisch einheitliche Substanz, und zwar nach P. MAYER nur im Fettkörper und im Dotter der Eier.

Verfälschungen mit gefärbten und geformten Tragant-, oder Stärkekörnern sind durch die Breibildung beim Uebertragen pulverisirter Cochenille in heisses Wasser leicht nachzuweisen; Beimengungen von Mineralien durch Einbringen in Chloroform, auf dem die Cochenille schwimmt, während die etwa beigefügten Verunreinigungen zu Boden sinken.

Die Färbekraft wird am besten nach PENNY bestimmt, indem man 1,0 pulverisirte Cochenille mit 5,0—6,0 Aetzammoniak in 20 Ccm. Wasser digerirt, dann auf 100 verdünnt und 1%ige Ferridcyankali-Lösung zusetzt, bis die Lösung gelbbraun geworden, oder mit Kaliumpermanganatlösung oxydirt. Die Vergleichung mehrerer Sorten ergiebt die beste.

Ueber die **Karminsäure**, deren Konstitution in neuester Zeit von M. LIEBERMANN aufgedeckt worden ist, ihre Salze und Derivate siehe unter Karminsäure und Injektion, physiologische.

Cochenille wird in der Färberei benützt scharlachrothe Töne zu erzeugen, doch ist ihr Verbrauch durch die Entdeckung der rothen Azofarbstoffe wesentlich eingeschränkt worden. Der Zinnlack besitzt eine schön rothe, der Thonerdelack eine violette, der Eisenlack eine schwärzliche Farbe, weshalb Eisengeräthe, eisenhaltige Beizen und eisenhaltiges Wasser beim Rothfärben mit Cochenille streng vermieden werden müssen.

In der histiologischen Technik wird die Cochenille leider verhältnissmässig wenig angewandt, obgleich sie für viele Zwecke, namentlich für Stückfärbungen, uns ausgezeichnete Farben liefert.

Seit vielen Jahren sind schon die Alauncochenille sowie Cochenilletinktur in Gebrauch, während die Cochenille-Eisenalaunfärbung erst in neuester Zeit angewandt worden ist.

Die Herstellung der Alauncochenille geschieht nach PARTSCH so, dass man zerriebene Cochenille in 5%igem Alaunwasser einige Zeit kocht, filtrirt und, um die Lösung haltbar zu machen, etwas Salicylsäure zusetzt. Ganz ähnlich ist die zumeist angeführte Vorschrift von CZOKOR, an der indes P. MAYER — und damit stimmt unsere Erfahrung überein — aussetzte, dass sie zu wenig Alaun enthalte.

Nach CZOKOR werden 7 Grm. Cochenille und 7 Grm. Alaun in einer Porzellanschale fein zerrieben, mit 700 Grm. Aqua dest. gekocht und bis auf 400 eingedampft. Nach dem Abkühlen wird (eventuell mehrmals) filtrirt und etwas Karbolsäure als Desinficiens zugefügt.

Der Vorschrift von PARTSCH entspricht ziemlich genau die nach einer Mittheilung CZOKOR's von C. RABL gegebene, die ich für die brauchbarste halte. 25 Grm. pulverisirte Cochenille und ebenso viel **reiner** Alaun werden mit 800 Grm. Aqua dest. gekocht und auf 600 eingedampft. Nach dem Erkalten wird (eventuell mehrmals) filtrirt und etwas Thymol zugesetzt.

Alauncochenille ist eine Farbe, die zur Schnittfärbung wenig geeignet ist, dagegen bei der Färbung ganzer Stücke sehr gute Resultate giebt, indem die Kerne schön violettroth, Blut und Muskulatur bleich gelbroth, das Protoplasma ebenfalls leicht gefärbt erscheinen; Schleim und Chondromukoid werden nicht gefärbt. Die Farbe dringt schnell ein — am besten wird im Brutschrank gefärbt — und liefert auch nach Anwendung von Osmiumge-

mischen zur Fixirung gute Resultate, wenn das Material frisch verarbeitet wird. Nach 24stündigem Verweilen im Brutofen sind nicht allzu dicke Stücke (nicht über 7,5 Mm. Dicke) durchgefärbt, sie werden dann so lange mit Wasser abgespült, als noch Farbwolken entweichen, und im Verlauf von 1—2 Stunden in 70%igen Alkohol übergeführt, worin sie dann nach Belieben verweilen können. Sollen Nachfärbungen der Schnitte in wässerigen Lösungen vorgenommen werden, so empfiehlt sich die Anwendung der Alauncochenille weniger; indes können die Schnitte, wenn sie zu viel Farbe im Wasser verlieren, mit anderen Kernfarbstoffen behandelt werden. Besonders schöne Bilder liefert mit Pikrinsäuregemischen vorbehandeltes Material; werden in Alkohol aufbewahrte Objekte benützt, so ist derselbe zu entfernen, bevor die Stücke in die Farbe kommen. Für Stückfärbungen, besonders von Embryonen, ist Alauncochenille eine so vorzügliche Farbe, dass sie häufiger angewendet zu werden verdiente, als es zur Zeit geschieht.

Cochenilletinkturen hat wiederholt P. MAYER empfohlen, zuerst auf folgende Weise bereitet:

Gepulverte Cochenille wird mit der 8—10fachen Menge 70%igen Alkohols infundirt, nachdem das Gemenge mehrere Tage gestanden, wird es filtrirt. Er hat diese Farbe zunächst für säurefreie Alkoholpräparate empfohlen; sie färbt nur Objekte, soweit sie Aluminium, Eisen etc. enthalten oder mit ihnen gebeizt worden sind, und sei daher nur in beschränktem Masse zu verwenden. Sie färbt sehr zart, überfärbt so gut wie nie und verdient besonders für ganz aufzubewahrende Keimscheiben und ähnliches Material empfohlen zu werden. Die Objekte kommen aus 70%igem Alkohol in die Farbe und wieder in 70%igen Alkohol zurück.

Wesentlich anders zusammengesetzt ist P. MAYER's neue Cochenilletinktur. 10 Grm. Cochenille werden fein gepulvert und mit 10 Grm. Chlorcalcium und 1 Grm. Chloraluminium gemischt, dann mit 200 Grm. 50%igen Alkohols übergossen, 16 Tropfen Salpetersäure (von 1,20 spec. Gew.) zugefügt und bis zum Kochen erhitzt. Nachdem die Lösung unter häufigem Umschütteln einige Tage kalt stehen geblieben, wird filtrirt. Die Objekte kommen aus 50%igem Alkohol in die Farbe und wieder in diesen zurück. Färbung ähnlich der mit P. MAYER's Parakarmin.

In einer mit grösserer Cochenillemenge bereiteten Alauncochenille scheidet sich allmählich ein rother feiner Satz ab. Dieser liefert mit einer kaltgesättigten Mischung von Alaun in 60%igem Alkohol bei längerem Stehen, nachdem die Lösung erhitzt, eine Farbe, welche eine sehr angenehme, zarte Färbung von Keimscheiben und dergleichen liefert, die der mit Alaunkarmim natürlich nahe steht.

Eisenalaun-Cochenille (A. SPULER). Es schien mir wünschenswerth, eine Färbemethode zu besitzen, welche die scharfen Bilder lieferte wie die Hämatoxylin-Beizemethoden, sich aber im Stücke anwenden lässt und den für Kurszwecke und zum Photographiren so angenehmen, schwärzlichen Farbenton erzielte. Diesen Bedingungen genügt das folgende, auch für grössere Stücke anwendbare Verfahren, dessen Resultate aber nur gute sind, wenn ganz sauber gearbeitet und nicht zu rasch vorgegangen wird. Bei genauer Einhaltung der Vorschrift gelingt sie — nach den Resultaten anderer Herren zu schliessen — immer.

Man bereitet sich ein Decoct von 40 Grm. Cochenille in destillirtem Wasser und filtrirt nach dem Erkalten. Durch nochmaliges Kochen des Rückstandes mit Aqua dest. wird der Farbstoff ganz gelöst, das Filtrat mit dem erst gewonnenen vereinigt und auf 200 eingedampft. Nun wird es mit 96%igem Alkohol versetzt, bis eine Fällung eintritt, dann dekantirt und filtrirt, das Filtrat wieder auf 400 eingedampft. Diese Cochenillelösung wird für Stückfärbung zum Gebrauch auf das doppelte Volumen verdünnt. Die

Stücke, nicht über $^1/_2$ Cm. dick (Embryonen können auch bis reichlich 1 Cm. dick sein, wenn man die Epidermis an einigen Stellen entfernt), werden aus destillirtem Wasser in die Lösung gebracht und verweilen darin 48 Stunden im Brutschrank oder auf dem Paraffinofen, dann werden sie mit destillirtem Wasser abgespült und in $^3/_4$%ige Eisenalaunlösung übertragen, worin sie alsbald schwarz werden. Diese wird nach 24 Stunden gewechselt und allmählich auf 1% verstärkt. Nach einigen Tagen werden die durchgebeizten Stücke gut in destillirtem Wasser gewaschen und dann beliebig eingebettet. Eine Wiederholung der ganzen Procedur kann stattfinden, wenn die Färbung nicht intensiv ausgefallen, ist aber bei Anwendung genügender Farbstoffmengen nicht nöthig. Ein Vorbeizen der Stücke in $^1/_2$—$^3/_4$%igem Eisenalaun empfiehlt sich bei grösseren Objekten.

Statt der oben angegebenen wässerigen Cochenillelösung kann man auch eine durch Extraktion der pulverisirten Cochenille mit 96%igem Alkohol gewonnene, vom Fett befreite Cochenilletinktur zum Färben benützen, diese liefert eine weniger intensive, mehr graue Färbung, die von Vortheil sein kann bei Objekten, welche in dicke Schnitte zerlegt werden sollen. Statt des Eisenalauns ist man auch in der Lage, mit gewöhnlichem Alaun, Brechweinstein, Tannin zu beizen, doch scheint mir der Eisenlack vorzuziehen.

Die so mit Eisenalaun gewonnenen Präparate sehen aus wie Federzeichnungen. Sie zeigen die Zellgrenzen, die Schlussleisten, die Basalkörperchen in Flimmerzellen (nicht aber die Centralkörper) deutlich gefärbt, ebenso vielfach Protoplasmastrukturen. Quergestreifte und glatte Muskulatur werden gut tingirt, namentlich tritt auch die Querstreifung der Herzmuskulatur ebenso wie die Zwischenscheiben zwischen deren einzelnen Einheiten gut hervor. Blut erscheint röthlich und beim Uebergang der kernhaltigen in die kernlosen Erythrocyten der Säugethierembryonen lässt sich sehr bequem nachweisen, wie der Kern seine Färbbarkeit mit Kernfarbstoffen einbüsst, sich nicht mehr schwarz, sondern roth färbt. Diese Blutfärbung ist auch bei Mesenterien u. dgl. schön zu erzielen, doch darf nicht vorgebeizt werden. Vielleicht ist dies dadurch bedingt, dass das Hämoglobin als stärkere Basis so fest mit dem Farbstoff verbunden ist, dass das anorganische Eisenalaun nicht die Bildung des Eisenlackes bewirken kann.

Im Bindegewebe werden die Zellenleiber der fixen Bindegewebs-, wie auch der Wanderzellen gut dargestellt. Als Stückfärbung nach Fixirung mit Müller'scher oder Zenker'scher Flüssigkeit leistet die Methode gute Vorfärbung der Nervenzellen und der Gliaelemente, wenn eine Markscheidenfärbung mit Eisenhämatoxylin angeschlossen werden soll.

Für die Nachbehandlung mit M. Heidenhain's Eisenhämatoxylin eignen sich mit dieser Methode vorgefärbte Schnitte recht gut, dagegen ist die Anwendung von Protoplasma-Anilinfarbstoffen etwas erschwert. Zur Schnittfärbung ist die Methode ebenfalls anwendbar und liefert namentlich bei dickeren Lamellen, wie Eihäuten, gut durchsichtige Präparate.

Litteratur: Partsch (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877), Czokor (Arch. mikr. Anat., Bd. 18, 1880), Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Mayer (Zool. Anz., 1878 und Mit. zool. St. Neapel, Bd. 10, 1892).

Spuler, Erlangen.

Coelenteraten. Die mikroskopische Bearbeitung der Coelenteraten bietet mancherlei Schwierigkeiten. Einmal ziehen sich viele Arten, vor allem die Aktinien, Alcyonarien, Hydromedusen bei der leisesten Berührung oder der gewöhnlichen Verwendung der Fixirmittel zu formlosen Massen ein, so dass eine ordentliche Zerlegung nicht mehr möglich ist Man muss deshalb die Thiere zuerst zweckmässig betäuben und dann fixiren oder bei der Fixation gewisse Kunstgriffe anwenden, um die Thiere im ausgestreckten Zustande zu erhalten. Andererseits sind die Gewebe der meisten Coelenteraten so ausserordentlich weich und wasserhaltig, dass sie bei der tech-

nischen Behandlung leicht stark schrumpfen und eine Einbettung häufig unmöglich machen. Auch das Kalkskelet vieler Coelenteraten bietet der Bearbeitung mannigfache Schwierigkeiten.

Als Fixationsmittel stand früher wohl die Osmiumsäure in Verbindung mit Essigsäure an erster Stelle, doch haben neuere Untersuchungen gezeigt, dass man mit anderen Fixationen, z. B. Sublimat, auch recht gute Resultate erzielen kann.

Die Spongien bieten unter den Coelenteraten in Bezug auf die Fixation wohl die geringsten Schwierigkeiten. Das souveräne Fixationsmittel für sie ist, wie von vielen Seiten betont wird, die Osmiumsäure. Sie sollen möglichst sofort nach dem Fang fixirt werden, da die Gewebe ausserordentlich schnell maceriren. Rousseau fixirt in $^1/_2$—$1^0/_0$iger Osmiumsäure, ebenso Dendy und Vossmaer und Pekelharing. Die beiden letzteren lassen die Präparate 1 Stunde im Dunkeln in $2^0/_0$iger Osmiumsäure verweilen, waschen dann kurz in destillirtem Wasser aus und entwässern. Nach Loisel darf Osmiumsäure nur wenige Sekunden, andere Flüssigkeiten wenige Minuten einwirken. Auch Osmiumgemische, wie Flemming'sche und Hermann'sche Lösung, lassen sich mit Vortheil verwenden, doch sind auch mit Sublimat (koncentrirt in absolutem Alkohol, Rousseau, koncentrirt wässerig mit gleichen Theilen Wasser, Fiedler), Pikrinschwefelsäure (Fiedler), Chromsäure (Vogt und Yung), absolutem Alkohol (Rousseau) gute Resultate erzielt worden. Vorzüglich soll sich für die Fixation von Spongien nach Loisel Millon'sches Reagens eignen, doch müssen Seespongien erst in Süsswasser ausgewaschen werden. Bei den Kalkschwämmen muss der Fixation für Schnittpräparate Entkalkung folgen, für die Alkohol mit Salpetersäure (20—$50^0/_0$ Säure, Rousseau), Holzessig (Vogt und Yung), Pikrinsäure-Alkohol (Vosmaer und Pekelharing) empfohlen worden sind. Kieselschwämme müssen entkieselt werden, indem man dem $90^0/_0$igen Alkohol 20—$40^0/_0$ Fluorwasserstoffsäure zusetzt (natürlich muss man dabei Glasgefässe vermeiden oder dieselben innen mit Paraffin überziehen). Die Entkalkung wie Entkieselung nimmt man nach Rousseau am besten erst dann vor, wenn die Objekte in Celloidin eingebettet sind. Zur Einbettung eignet sich wohl im allgemeinen Celloidin besser als Paraffin, in dem die Gewebe leicht schrumpfen. Für Totalfärbung empfiehlt Rousseau vor allem $1^0/_0$iges wässeriges Nigrosin, für Schnittfärbung Pikromagnesiakarmin oder Pikronigrosin. Zur Untersuchung der Hornfasern unterwirft Sukatschoff kleine Stückchen von Schwämmen der Behandlung mit künstlichem Magensaft, bis das weiche Schwammgewebe völlig verdaut ist, dann 2 Tage in $5^0/_0$ige Kalilauge, Auswaschen in Wasser, Alkohol, Xylol, Austrocknen im luftverdünnten Raum und Aufheben unter dem Deckglas entweder in Luft oder in geschmolzenem Balsam. Man kann die gereinigten Fasern auch $^1/_2$—1 Stunde in Eau de Javelle behandeln, in Wasser auswaschen, in $1^0/_0$ige Chromsäure übertragen und dann in Gentianaviolett färben. Um Schnitte von den Fasern zu erhalten, bettet man sie in Gummiglycerin ein und schneidet mit dem Rasirmesser. Zur Färbung frischer Schnitte von Spongien leistet nach Loisel eine Lösung von Congo in Süsswasser gute Dienste. Um Kalkschwämme mit den Weichtheilen zu schleifen, fixiren Johnston-Lavis und Vosmaer den Schwamm erst in absolutem Alkohol und bringen ihn langsam durch Benzol in Benzol-Kanadabalsam, trocknen im Luftbad bei 80^0 mehrere Tage oder Wochen und schleifen mit alkoholischer Seifenlösung.

Für die Anthozoen muss man besondere Vorsichtsmassregeln bei der Fixation beobachten. Die Thiere werden am besten zunächst betäubt. Hierzu eignet sich nach O. und R. Hertwig vor allem Tabaksrauch; man bläst in das zugedeckte Gefäss mit den Thieren Tabaksrauch so lange, bis sie auf Kneifen der Tentakel nicht mehr reagiren. Hofer betäubt mit einer $^1/_4{}^0/_0$igen

Lösung von salzsaurem Hydroxylamin, dann gut in Wasser auswaschen. SORBY verwendet Menthol, TULLBERG und DUERDEN Chlormagnesium oder Magnesiumsulfat: man setzt dem Seewasser langsam innerhalb einer halben Stunde bis zu 1% zu. LO BIANCO giesst auf das Seewasser eine Mischung von 1 Theil Glycerin, 2 Theilen 70%igen Alkohols und 2 Theilen Seewasser und lässt sie langsam diffundiren. Man kann aber auch die Thiere durch plötzliches Uebergiessen mit grossen Mengen Fixationslösung (eventuell heiss) überraschen und so ein Zusammenziehen verhindern. So bringt MC. MURRICH die Thiere in Gefässe, die sie gerade eben fassen, und spritzt dann plötzlich mit einer Glasspritze PERENYI'sche Flüssigkeit in den Mund und übergiesst sie dann damit. In Bezug auf die Wahl der Fixationsmittel und die Einbettung gilt im wesentlichen das bei den Spongien Gesagte. LO BIANCO fixirt kurz in heissem Sublimat und behandelt dann einige Minuten mit ½%iger Chromsäure. Auch Formol in 3—5%iger Lösung wird in neuerer Zeit empfohlen.

Auch für die Hydrozoen gilt in Bezug auf die Vorsichtsmassregeln bei der Fixation Aehnliches wie bei den Anthozoen. Bei den kleineren Hydromedusen, besonders bei den Süsswasserformen, kann man eine Einstülpung des Thieres meistens schon dadurch vermeiden, dass man den in ganz wenig Wasser ausgestreckten Polypen plötzlich mit einer grösseren Quantität Fixationslösung übergiesst. Zu letzterem Zwecke benutzt WETZEL die VOM RATH'sche Pikrinosmiumessigsäure, VOGT und YUNG 0,5%ige Osmiumsäure, LANG neben dem erwähnten VOM RATH'schen Gemisch noch heisse koncentrirte Sublimatlösung. Für marine Formen eignet sich zur Fixation nach LANG mehr koncentrirter Sublimatalkohol (70%), nach O. und R. HERTWIG (78) 0,5%ige Osmiumsäure. Die Fixation soll nur kurze Zeit dauern, höchstens 15 Minuten. Zum Betäuben empfiehlt sich salzsaures Hydroxylamin, Cocaïn. LO BIANCO fixirt Medusen und Siphonophoren in einem Gemisch von 10 Theilen 10%igen Kupfersulfats und 1 Theil koncentrirten Sublimats. Man giesst diese Mischung direkt in grösserer Menge in das die Thiere enthaltende Seewasser. Nachher gut in Süsswasser auswaschen. Auch Medusen und Siphonophoren kann man ausgestreckt in Formol konserviren, nur muss dasselbe langsam in das Seewasser diffundiren (am besten 6—8%ige Lösung, DAVIDOFF). Zur Maceration verwendet man nach dem Vorgang von O. und R. HERTWIG Mischungen von Osmiumsäure, Essigsäure und Seewasser. z. B. 0,2% Essigsäure und 0,4% Osmiumsäure in Seewasser oder 1%ige Osmiumsäure 2 Theile, Eisessig 1 Theil, Seewasser 22 Theile (SCHNEIDER), Dauer der Einwirkung 5—10 Minuten.

Für Ctenophoren eignen sich als Fixationsmittel Osmiumsäure, das LO BIANCO'sche Kupfersulfat-Sublimatgemisch und Formol.

Zur Darstellung des Nervensystems der Ctenophoren ist von BETHE mit Vortheil die vitale Methylenblaufärbung benutzt worden. Er setzt die Thiere bis zur eingetretenen Färbung (1—2 Stunden) in Seewasser mit 0,025% Methylenblau, oder er schneidet Stücke des lebenden Thieres heraus und legt sie in eine Mischung von gleichen Theilen See- und destillirten Wassers mit einigen Tropfen Methylenblaulösung. Die Nerven färben sich erst dann, nachdem schon andere Theile blau sind.

Zur Fixation von Eiern und Jugendstadien von Coelenteraten sind empfohlen worden koncentrirtes Sublimat in Seewasser mit 2% Essigsäure für Akraspeden (HEIN), 90%iger Alkohol oder koncentrirtes Sublimat für Spongilliden. BRAUER fixirt beschalte Hydraeier in heissem Sublimat, unbeschalte in Flemming. Einbetten in Paraffin. Da die ersteren leicht splittern, muss man die Schnittfläche mit HEIDER'schem Mastixkollodium überstreichen. Um die Larven von Spongien leicht in die verschiedenen Flüssigkeiten transportiren zu können, legt MAAS Deckgläser in die die

Thiere enthaltenden Uhrschalen. Die Larven setzen sich daran fest und können leicht transportirt werden. Fixation für Totalpräparate in Alkohol, für Schnittpräparate in Flemming.

Litteratur: Rousseau (Annal. Soc. Belge Micr., Bd. 24, 1889), Dendy (Quart. Journ. Micr. Sc., New Ser., Bd. 32, 1891), Vosmaer und Pekelharing (Verh. Ak. van Wetensch., Amsterdam, Deel 6, 1898), Loisel (Journ. de l'Anat. Phys., 34. Jahrg. 1898), Fiedler (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), Vogt und Yung (Lehrbuch der praktischen vergleichenden Anatomie, Braunschweig), Sukatschoff (Zeit. wiss. Zool., Bd. 66, 1899), Mc. Murrich (Journ. Morph., Bd. 3, 1889), Lo Bianco (Mitth. zool. St. Neapel, Bd. 9, 1890), Wetzel (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Johnston-Lavis und Vosmaer (Journ. Roy. micr. Soc. [2.], Bd. 7, 1887), O. u. R. Hertwig (Jena. Zeit. Natur., Bd. 13 und 14, 1879 und 80), Hofer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Sorby (Journ. Roy. Micr. Soc., 1899), Tullberg (Verh. Biol. Ver. Stockholm, Bd. 4, 1891), Duerden (Journ. Inst. Jamaika, Bd. 2, 1898), Bethe (Biol. Centr., Bd. 15, 1895), Hein (Zeit. wiss. Zool., Bd. 17, 1900), Brauer (Zeit. wiss. Zool., Bd. 52, 1891), Lang (Zeit. wiss. Zool., Bd. 54, 1892), O. und R. Hertwig (Nervensystem und Sinnesorgane der Medusen, Leipzig 1878), Davidoff (Anat. Anz., Bd. 11, 1896), Schneider (Jena. Zeit. Natur., Bd. 27, 1893), Maas (Zeit. wiss. Zool., Bd. 67, 1900).

Coeruleïn, Syn. Coeruleïn A Teig (Höchst), Pyroninfarbstoff, schwarze, in Wasser und Alkohol unlösliche Paste, in Schwefelsäure mit schmutzigbrauner Farbe löslich. Mit Natronlauge Grünfärbung. Färbt mit Chrom gebeizte Wolle und Seide grün.

Coeruleïn S entsteht durch Behandlung des vorigen mit Natriumbisulfit (Höchst, Elberfeld). Schwarzes, in kaltem Wasser und Alkohol wenig lösliches Pulver.

Von Lenhossék ist es als das »beste Färbemittel zur Darstellung der Myofibrillen sowohl in den glatten wie in den quergestreiften Muskeln«, besonders in Verbindung mit Toluidinblau, bezeichnet worden.

Litteratur: v. Lenhossék (Anat. Anz., Bd. 16, 1899).

Coffeïn siehe Alkaloide, pflanzliche.

Colloid. Unter Colloid versteht man glänzende, durchscheinende, dickflüssige, meist in Kugel- oder Schollenform auftretende Substanzen, die sich mit sauren Anilinfarbstoffen intensiv färben. Als Paradigma gilt das Schilddrüsencolloid. Die colloiden Massen sind aber nicht nur epithelialer Entstehung, sondern können auch aus Bindegewebszellen, Wanderzellen, vielleicht selbst rothen Blutkörperchen entstehen; sie decken sich also nicht mit dem »epithelialen Hyalin« von Klebs und Ernst, wohl aber mit Lubarsch's »isekretorischem und degenerativem, intracellulär gebildetem Hyalin«, von dem wieder *a)* epitheliales, *b)* conjunktivales unterschieden wird. In diese Gruppe gehören auch die Russel'schen Fuchsinkörperchen. Specifische Färbungen für das Colloid giebt es nicht; alle sauren Anilinfarbstoffe lassen sie scharf hervortreten, doch sind manche colloide Substanzen auch mit den Kernfarbstoffen gut färbbar. Sehr gut und sinnfällig treten sie hervor durch die Weigert'sche Fibrinfärbung, die Triacidlösungen Ehrlich's, die Heidenhain'sche Eisenhämatoxylinfärbung sowie die Russel'sche Fuchsinfärbung.

Lubarsch, Posen.

Congo-Corinth B. Disazofarbstoff (Berlin, Elberfeld). Grünschwarzes Pulver, das sich mit fuchsinrother Farbe in Wasser löst. Die Lösung färbt sich mit Natronlauge kirschroth, mit Essigsäure bläulich; mit Salzsäure violetter Niederschlag. In koncentrirter Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich, beim Zusatz von Wasser entsteht ein violetter Niederschlag.

Congoroth. Azofarbstoff, erhalten aus Tetrazodiphenyl und Naphtionsäure, das Natriumsalz der Tetrazodiphenyldinaphtylamindisulfosäure $\left\{\begin{matrix} C_6H_4 . N : N . C_{10}H_5 (NH_2) (SO_3 Na) \\ C_6H_4 . N : N . C_{10}H_5 (NH_2) (SO_3 Na) \end{matrix}\right.$ (Berlin, Elberfeld). Rothbraunes Pulver, in Wasser leicht löslich, sehr säureempfindlich, giebt mit Salzsäure und ver-

dünnter Schwefelsäure blauen, mit Natronlauge rothbraunen Niederschlag. Färbt Baumwolle und Wolle direkt roth. Reaktion des chemisch reinen Präparats neutral, des Handelsprodukts alkalisch.

Zuerst von Scholz benutzt zur Färbung lebender Rotatorien. Während sich das ganze Thier roth färbt, erscheint der Magen durch Anwesenheit freier Säure blau gefärbt. Doch ist es nach den Untersuchungen von Wurster kein absolutes Reagens auf freie Säure, da die Blaufärbung bei Gegenwart von Ammoniak nicht eintritt. Nach Čelakovský verliert auch der Farbstoff diese Eigenschaft, sobald er an koagulirtes Eiweiss gebunden ist. Kohlensäure reagirt überhaupt nicht auf Congoroth.

Schaffer färbt Schnitte von Schafembryonen, die Knorpel und Knochen enthalten, aus Müller'scher Flüssigkeit mit wässeriger Congolösung und entfärbt dann ganz kurz in Salzsäurealkohol ($^1/_{200}$). Zellen und Zellkerne roth, Pericellularsubstanz blau.

Alt empfiehlt zur Färbung des Achsencylinders, besonders der peripheren Nerven, Färbung der Schnitte nach beliebiger Fixation $^3/_4$—2 Stunden im Brutofen in einer koncentrirten filtrirten Lösung von Congo in absolutem Alkohol und Differenziren in absoluten Alkohol, in dem das Präparat blau wird. Bergamottöl, Chloroform, Balsam.

Für denselben Zweck empfiehlt Rehm koncentrirte wässerige Lösung, Färbung einige Minuten, bis alle überschüssige Farbe entfernt ist, dann 10 Minuten in Alkohol mit einigen Tropfen Salzsäure, Origanumöl, Balsam. Nissl benutzt es in 0,8%iger wässeriger Lösung zur Färbung der Achsencylinder von Müllerpräparaten, Färbung dreimal 24 Stunden, dann zehn Minuten in 95%igen Alkohol und 6 Stunden in 3%ige alkoholische Salpetersäure, Alkohol, Origanumöl, Balsam.

Auch zu Doppelfärbungen ist das Congoroth benutzt worden von Lendenfeld nach Alaunkarmin für Spongien, von Stintzing nach Hämalaun für den Magen, Carnoy und Lebrun in gleicher Weise für Froscheier. Lendenfeld giebt auch eine Dreifachfärbung an, Durchfärben mit Alaunkarmin, Schnittfärbung in Congo, Auswaschen in Wasser, Nachfärbung in Anilinblau, Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Von Horrel ist eine Doppelfärbung mit Gentianaviolett angegeben worden, 24 Stunden in koncentrirtes wässeriges Gentianaviolett, dann 10—20 Sekunden in alkoholische Congolösung.

Stein färbt Magenschnitte 15—20 Minuten in koncentrirter alkoholischer Congolösung, eventuell mit Zusatz von Anilin, abspülen in absolutem Alkohol und einlegen in Salzsäurealkohol, bis die Schnitte blau sind. Belegzellen tiefblau, Hauptzellen fast ungefärbt.

Auch für botanische Zwecke ist Congo viel benutzt worden, so ist es von Klebs als Reagens auf Cellulose empfohlen worden, doch ist es nach Heinricher für diesen Zweck nur mit Vorsicht zu benützen, dagegen erwies es sich als ein sehr gutes Färbungsmittel für pflanzlichen Schleim. af Klercker empfiehlt für ausschliessliche Membrantinktion Behandlung der Stücke mit Eau de Javelle sorgfältiges Auswaschen, Stückfärbung mit wässerigem Congo. Auswaschen, Einbetten.

Litteratur: Scholz (Centr. med. Wiss., 1886), Wurster (Centr. Phys., 1887), Čelakovský (Flora, 1892), Schaffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), Alt (Münch. med. Woch., 1892), Rehm (Münch. med. Woch., 1892), Nissl (Münch. med. Woch., 1886), v. Lendenfeld (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Stintzing (Böhm & Oppel, Taschenbuch, III. Aufl., 1896), Carnoy und Lebrun (Cellule, Bd. 12, 1897), van Horrel (Journ. Linnean Soc., Bd. 33, 1897), Stein (Mitth. embryol. Inst., Wien 1892), Klebs (Untersuch. bot. Inst. Tübingen, Bd. 2, 1888), Heinricher (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), af Klercker (Verh. biol. Ver. Stockholm, Bd. 4, 1892).

Coniferen. Zur Fixirung der Coniferen hat sich starke Flemming'sche Flüssigkeit am besten bewährt, wenn auch meist ziemliche Schwärzung eintritt, die jedoch durch Wasserstoffsuperoxyd leicht entfernt werden kann.

Der Befruchtungsvorgang, der im Ruhezustand des männlichen und weiblichen Kernes eintritt, ist relativ leicht zu beobachten. Im Jahre, wo die Fichte reichlich blüht, werden etwa vom 10. Juni an täglich ganze Blüthenzapfen in Alkohol, die leicht loszutrennenden, am Grunde der Fruchtschuppen sitzenden Samenanlagen in Flemming fixirt und die ersteren in Freihandschnitten (vorher 1 Tag in Alkoholglycerin), letztere in Mikrotomschnitten untersucht. Frische Eier sind in mit Wasser verdünntem Hühnereiweiss mit etwas Kampher zu untersuchen.

Litteratur: Strasburger (Gr. b. Pr., 3. Aufl., 1897), Ferguson (Ann. Bot, Bd. 15, 1901). — Für die den Coniferen nahe verwandten Cycadeen vergl. Litteratur: Ikeno (Jahrb. wiss. Bot., XXXII, 1898). *Magnus*, Berlin.

Coniferin (Abietin) siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Coniin siehe Alkaloide, pflanzliche.

Conjugaten. Für die Konservirung der Conjugaten: Desmidiacäen, Zygnemacäen (Spirogyra) etc. gilt im allgemeinen das für die Chlorophycäen Gesagte. Ueber die Färbung der ihnen meist charakteristischen Gallertscheiden siehe Schleime, pflanzliche. Ueber die Gypskrystalle in den Endvakuolen der Desmidiacäen vergleiche Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

Die verbreitetste der Conjugaten (Spirogyra) ist besonders geeignet zur Lebendbeobachtung der Kerntheilung. Man suche sich hierzu Formen — überall in Teichen und Torfstichen als dichte grüne Matten — mit wenig Spiralbändern, um den Zellinhalt gut sehen zu können. Die Kerntheilung geschieht normal zwischen 11 und 1 Uhr nachts. Wird jedoch üppig wachsendes Material abends einer Temperatur von + 4° C. ausgesetzt und wird die Theilung bis zum nächsten Tag verschoben, so können alle ihre Einzelheiten, Kernplatte, Spindelbildung, Zellwandbildung, innerhalb 2 Stunden beobachtet werden.

Durch Abkühlung auf — 4° C. während der Theilung werden zweikernige Zellen erzielt (Gerassimoff). Durch Kulturen in 1%igem Aetherwasser sollen sich die Zellen fortdauernd amitotisch theilen (Nathanson).

Conjugationen werden leicht im Februar bis Mai in sonniger Lage erzielt, in 2—4%iger Rohrzuckerlösung oder auch in wenig Wasser (Klebs).

Zur Untersuchung der Kerne fixirten Materials ist noch eine interessante Methode beschrieben worden. Die in Flemming's Chromessigsäure fixirten Algen werden mit circa 50%iger Chromsäure (schwächer oder stärker, doch nie so stark, dass die Zellmembran weggelöst wird) behandelt, um gewisse Theile des Kernes wegzulösen, andere hervortreten zu lassen (streitiger Punkt, ob Chromosomen aus Nukleolen entstehen). Mit Wasser ausgewaschen und mit Brillantblau Extragrünlich (Triphenyl pararosalintrisulphursaures Natron, Bayer & Co., Elberfeld) gefärbt, oder es werden in zugeschmolzenen Röhren in Wasser von 140 bis 150° oder Glycerin von 230—250° im Oelbad hinter einander verschiedene Theile des Plasmas weggelöst (am längsten widersteht Kerngerüst und karyokinetische Figur) und in Brillantblau mit etwas Essigsäure gefärbt. Ueber ähnliche Verdauungsmethoden siehe Kernchemie (Wisselingh).

Litteratur: Nathansohn (Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 35, 1900), Klebs (Beding. der Fortpflanz. bei einig. Algen u. Pilzen, 1896), Wisselingh (Bot. Zeit., 1898 u. 1899).

Magnus, Berlin.

Copepoden siehe Arthropoden.

Corallin, Syn. Päonin, Triphenylmethanfarbstoff französischer Provenienz, der durch Einwirkung von Ammoniak auf Aurin entsteht und wahrscheinlich rosolsaures Rosanilin enthält. Rothbraunes Pulver, das in Wasser schwer, in Alkohol leicht mit rothbrauner Farbe löslich ist. Mit Salzsäure Gelbfärbung. In Schwefelsäure mit gelbbrauner Farbe löslich.

Es ist als Reagens auf Cellulose benützt worden. (Näheres siehe Zellmembranen, pflanzliche.)

Cornea siehe Sehorgan.

Corpora amylacea oder **versicolorata** (SIEGERT). Unter diesem Namen hat man Gebilde sehr verschiedener Grösse und Herkunft zusammengefasst, die durch das Auftreten koncentrischer Streifung, sowie der Jodreaktion charakterisirt sein sollten. Erst neuerdings ist eine schärfere Scheidung vorgenommen worden (SIEGERT), nachdem sich herausgestellt, dass keineswegs alle koncentrisch geschichteten kugeligen und ovalen Körper der verschiedenen Organe die Amyloidreaktionen geben. Da ferner die Jodreaktion bei diesen Gebilden nicht ganz identisch mit Amyloidreaktion ist, so ist empfehlenswerth, die Bezeichnung Corpora amylacea ganz fallen zu lassen und für die bei Zusatz von Jodlösungen eine Metachromasie aufweisenden Körper mit SIEGERT die Bezeichnung Corpora versicolorata und für die jene Reaktion nicht aufweisenden Gebilde den Namen »Corpora flava« zu wählen.

Die Corpora versicolorata finden sich: 1. im Gehirn (am besten im Ependym der Seitenventrikel) und Rückenmark; 2. in den Lungen älterer Personen (besonders bei Emphysem); 3. in der Prostata, doch gehört nur ein Theil der Prostatakonkremente zu ihnen; 4. in den Schleimhäuten des Urogenitalapparates, besonders bei chronischen Allgemeinerkrankungen: 5. in mannigfachen Cysten, besonders der Ureteren und der Harnblase, auch der Speiseröhre und den Cysten der Adenomyome des Uterus. Sie unterscheiden sich von der amyloiden Substanz dadurch, dass sie alle bereits bei Zusatz dünner Jodjodkalilösung eine blaue bis violette oder auch grünliche Farbe annehmen, bei weiterem Zusatz von Schwefelsäure aber röthlich werden.

Zu ihrem Nachweis genügt es vielfach, Scheerenschnitte der frischen Gewebe vorzunehmen und sie mit Jodjodkalilösung zu behandeln. Sehr empfehlenswerth ist auch die von SIEGERT angegebene Behandlung. Man wäscht die Schnitte in Wasser gut aus und färbt sie mit starker Jodjodkalilösung tiefbraun, um sie dann in absolutem Alkohol so zu entfärben, dass sie wieder ganz ungefärbt aussehen. Darauf kommen sie in 10⁰/₀ige Salzsäurelösung, werden in Wasser wieder entsäuert und in jodhaltigem Alkohol (4 Theile Alkohol absolutus auf 1 Theil officinelle Jodtinktur) entwässert, in Origanumöl eingeschlossen. Auch an Schnitten gehärteter Objekte giebt die Methode gute Resultate, die Corpora versicolorata sind tiefbraun gefärbt, alles übrige farblos. Für gehärtetes und eingebettetes Material ist ferner die LANGHANS'sche Glykogenmethode mit Karminvorfärbung empfehlenswerth. Die Anilinfarbstoffamyloidreaktionen fallen bei den Corpora versicolorata ebenfalls positiv aus, doch ist die Metachromasie meist eine viel weniger intensive und mehr verwaschene (besonders bei denen der Lungen und des Gehirns). Am besten ist noch die Färbung mit Methyl- oder Gentianaviolett. Die Färbung mit Thionin nach KANTOROWICZ und mit polychromem Methylenblau versagt dagegen fast ganz.

Für die Färbung der Corpora flava kommen alle für colloide und hyaline Substanzen geltenden Färbungen in Betracht.

Litteratur: LUBARSCH (Ergebnisse der allgem. Pathol., Jahrg. I, Abtheil. 2), SIEGERT (VIRCHOW's Arch., Bd. 129), SCHMORL (Pathol.-histol. Untersuchungsmethoden).

Lubarsch, Posen.

Corti'sches Organ siehe Gehörorgan.

Crinoiden siehe Echinodermen.

Croceïn 3B (Schöllkopf), ein Azofarbstoff, der aus Amidoazotoluol und α-Naphtoldisulfosäure entsteht. Rothbraunes Pulver, das sich in Wasser mit rother Farbe löst. Salzsäure und Schwefelsäure geben violetten Niederschlag, Natronlauge violette Färbung. Färbt mit Chrom gebeizte Wolle roth.

Von GRIESBACH als Kernfärbungsmittel empfohlen.

Litteratur: GRIESBACH (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1883).

Crustaceen siehe Arthropoden.

Ctenophoren siehe Coelenteraten.

Cuprammoniumoxyd (SCHWEIZER'S Reagens) siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Curare, ein seit Jahrhunderten von den Eingeborenen Südamerikas hergestelltes Pfeilgift, das auch arzneiliche Verwendung findet. Es besteht aus dem eingedickten Saft verschiedener Strychnosarten. Das im Handel befindliche Präparat ist das Tubocurare, d. h. die in Bambusröhren verpackte Sorte; es enthält zwei Alkaloide, das Tubocurarin und das Curin. Das Tubocurare löst sich in Wasser; die Lösung reagirt sauer.

Die Wirkung des Curare auf den Thierkörper äussert sich in einer allgemeinen Lähmung. Diese beruht auf einer Lähmung der motorischen Nerven im Muskel, während die sensiblen Nerven funktioniren.

Die zum Erzeugen einer vollkommenen Lähmung beim Thier nöthige Menge des Giftes wechselt. Für 1 Kilogramm Kaninchen werden etwa 3 Mgrm. des Giftes gebraucht.

Curare ist angewandt worden bei Untersuchungen über den feineren Bau des Regenwurms, und zwar zur Tödtung des Thieres. 2 Ccm. einer Lösung von 1 : 500 werden injicirt (CERFONTAINE). Ferner hat es v. LENDENFELD bei Vergiftungsversuchen an Spongien benutzt.

Litteratur: CERFONTAINE (Arch. Biol., Bd. 10, 1890). — v. LENDENFELD (Zeit. wiss. Zool., Bd. 48, 1889). *Mosse*, Berlin.

Curcumeïn, Syn. Citronin, Jasmin, Monazofarbstoff (Berlin), gelbes Pulver, das in heissem Wasser ziemlich leicht löslich ist. Die Lösung färbt sich mit Salzsäure roth, mit Natronlauge braun. In Schwefelsäure mit rothvioletter Farbe löslich.

Curcumin S, Syn. Sonnengelb. Azofarbstoff (Berlin, Elberfeld). Rothbraunes, in Wasser lösliches, in Alkohol unlösliches Pulver. Mit Salzsäure braune, mit Natronlauge rothe Fällung. In Schwefelsäure mit rother Farbe löslich.

Cuticula (pflanzlich) siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Cutin siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Cyanin, Syn. für Chinolinblau.

Cyankali, KCN, das Kaliumsalz der Blausäure, bildet eine in Würfeln oder Oktaedern krystallisirende Substanz, die sich sehr leicht in Wasser, sehr schwer in kaltem, etwas leichter in kochendem Alkohol auflöst. Die Lösung reagirt alkalisch und ist von scharfem Geschmacke. Cyankali wird durch die schwächsten Säuren zersetzt; so zersetzt es sich schon durch die Kohlensäure der Luft, wobei Blausäure frei wird und sich durch ihren charakteristischen Geruch bemerkbar macht.

Das Cyankali findet bei der galvanischen Vergoldung Verwendung. Es ist ein starkes Gift; die Ursache der Giftwirkung ist noch nicht gefunden.

Cyankali dient in der mikroskopischen Technik dazu, zu stark vergoldete Präparate zu bleichen, ferner als Lösungsmittel der chromatischen Substanz der Zellen (CARNOY: Lösung von 40—50 : 100).

Litteratur: CARNOY (La Biologie cellulaire, pag. 244), DELAGE (Arch. Zool. expér., Bd. 4, 1886), GEBERG (Inter. Monat. Anat. Physiol., Bd. 10, 1893). *Mosse*, Berlin.

Cyanophilie siehe Kernchemie.

Cyanophycäen. Die niedersten Algen, Cyanophycäen oder Phycochromacäen oder auch Spaltalgen, Schizophycäen genannt, sind in ihrer Organisation der Gegenstand zahlreicher interessanter Untersuchungen. Der Hauptstreitpunkt dreht sich um die Frage, ob hier nicht kernlose Zellen vorliegen. Ueber die zur chemischen Identificirung hierbei vielfach angewandten gut ausgearbeiteten Verdauungsmethoden siehe Kernchemie. Material liefert jederzeit die symbiotisch in dem in allen botanischen Gärten kultivirten Wasserfarn, Azolla caroliniana, in den Höhlungen des oberen Blattes lebende Nostocacäe Anabaena Azollä oder die in jedem stagnirenden Wasser auftretenden olivengrünen Fladen der sich ziemlich lebhaft bewegenden Oscillarienfäden.

Die meist von pektinhaltiger Gallerte eingeschlossenen Algenfäden enthalten innerhalb der Chitinmembran (siehe pflanzliche Zellmembranen) eine durch Chlorophyll und Phycocyan (siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen) gefärbte Schicht, die den hellen Innenraum des »Centralkörpers« umschliesst. Wird der Farbstoff mit Chloroformwasser in circa 4 Stunden ausgezogen, erkennt man, dass die äussere Schicht aus Körnern besteht, die als isolirte Chromatophoren gedeutet werden; dies wird noch deutlicher, wenn in einer mit Chloroform geschüttelten, gesättigten wässerigen Lösung von Magnesium- oder Ammoniumsulfat der Farbstoff in der Zelle selbst niedergeschlagen wird. Die Wandschicht enthält ausserdem noch die sogenannten Cyanophycinkörner und Schleimkugeln. Das Wichtigste ist die Natur der ungefärbten Partie der Zelle des »Centralkörpers«. Auch rein morphologisch scheint er nach den letzten Untersuchungen als Kern aufzufassen zu sein. Er besteht danach aus einer wenig färbbaren Grundmasse, der Chromatinkörnchen eingelagert sind, doch fehlen Nukleolen und Kernmembran. Er theilt sich mitotisch; zur allgemeinen Orientirung tritt er gut in koncentrirter Karbolsäure hervor. Alle Einzelheiten sind jedoch ausschliesslich nach ganz bestimmten Fixirungs- und Färbemethoden zu erkennen. Fixirung in schwefligsaurem Alkohol (oder nicht ganz so gut Formolalkohol): gesättigte schwefligsaure Lösung 7 V. und 94%igen Alkohol 93 V. Auswaschen 12—24 Stunden in absolutem Alkohol (enthält die Alge viel Kalk, soll überall statt Alkohol Wasser genommen werden). Färbung der Mikrotomschnitte mit Alaunhämatoxylin: 1. Ammoniakalaun 75 in Wasser 750, 2. Glycerin 125, 3. Alkohol 100, 4. gesättigte alkoholische Hämatoxylinlösung, die mehrere Wochen am Licht reifen muss, davon 10 V. in 100—200 V. 1%iger Formollösung. Auswaschen mindestens 1 Stunde in fliessendem Leitungswasser, differenziren in 1 V. koncentrirter alkoholischer Pikrinsäurelösung, 1 V. Wasser, 2 V. 94%igen Alkohols einige Sekunden bis Minuten, Abspülen in 75%igen Alkohol, wenn zu stark, zu korrigiren mit Ammoniumkarbonatlösung 1‰ in 30%igem Alkohol, auswaschen in Wasser 1 Stunde durch 50-, 75-, 94%igen, absoluten Alkohol, Toluol, in Damar in Toluol gelöst.

Litteratur: Hegler (Jahrb. wiss. Bot., 36, 1901), Zacharias (Abh. nat. Ver. Hamburg, Bd. 16, 1900).

Magnus, Berlin.

Cyanophyll siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzenzelle.

Cyanosin, Syn. für Phloxin.

Cyanosin, spritlöslich. Pyroninfarbstoff, der durch Aethylirung von Phloxin entsteht (Höchst, Kalle). Rothbraunes, in Wasser fast unlösliches, in Alkohol mit blaurother Farbe und gelbrother Fluorescenz lösliches Pulver. Bei Zusatz von Salzsäure verschwindet die Fluorescenz. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich.

Cyanquecksilber, Quecksilbercyanid, Hydrargyrum cyanatum, $Hg(CN)_2$, entsteht beim Lösen von gelbem Quecksilberoxyd in überschüssiger Blausäure und bildet farblose, glänzende Krystalle. Es ist in Wasser leicht löslich (bei 15° 16,5%), ebenso in Alkohol (in 90%igem Alkohol 10%). Mit Haloidsäuren zersetzt es sich unter Bildung von Blausäure. Die wässerige Lösung reagirt neutral. Kaustische Alkalien wirken auf die Lösung nicht ein. Chromsaure Salze und Ferricyankalium bilden in koncentrirter Lösung mit Cyanquecksilber Doppelverbindungen.

Es ist in koncentrirter wässeriger Lösung von Keiser als vorzügliches Fixationsmittel für Acanthocephalen empfohlen worden.

Litteratur: Keiser (Bibliotheca zoologica, Heft 7, 1891).

Cyanwasserstoff (Blausäure) ist in Pangium edule und vielleicht auch sonst das erste erkennbare Produkt der Stickstoffassimilation. Nachweis durch Bildung von Berliner Blau.

Litteratur: Treub (J. du Jard. de Buitenzorg, 13, 1895), siehe auch Blausäure.

Magnus, Berlin.

Cycadeen siehe Coniferen, siehe auch Centrosomen in Pflanzenzellen.

Cytolithen siehe Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

Cytoplastin siehe Kernchemie.

Cytase siehe Enzyme.

Cytosin siehe Kernchemie.

D.

Dahlia, Syn. HOFMANN's Violett, Primula, Jodviolett (KÜCHLER), Triphenylmethanfarbstoff, das chlorwasserstoffsaure Salz des Triaethylrosanilins, $C_{20}\ H_{18}\ (C_2\ H_5)_3\ N_3\ O$. Entsteht durch Erhitzen von Rosanilin mit Jodmethyl. Einer der ältesten Anilinfarbstoffe (A. W. HOFMANN, 1862). Grünglänzende Stücke, welche sich in Wasser und Alkohol leicht mit blauvioletter Farbe lösen. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure grün, mit Natronlauge braunrother Niederschlag. In Schwefelsäure mit brauner Farbe löslich, beim Verdünnen färbt sich die Lösung blaugrün.

Von HUGUENIN zur Färbung des Achsencylinders in die Mikrotechnik eingeführt, ist es dann von EHRLICH vor allem studirt und empfohlen worden. Als Farblösung verwendet er eine gesättigte Lösung des Farbstoffs in einer Mischung von absolutem Alkohol 50 Theile, Aqua dest. 100, Eisessig 12,5, Färbung 12 Stunden lang. Es färbt sich das Protoplasma blau, Amyloid roth, besonders intensiv gefärbt sind die Plasmazellen. Auch der Schleim färbt sich stark.

Von UNNA ist dann der Farbstoff zur Darstellung der elastischen Fasern in der Haut an Osmiumpräparaten gerühmt worden. Färbung 12—24 Stunden in folgender Lösung: Dahlia 0,2, Aqua dest., Alkohol 95% aa. 10,0, Misce solve adde Acid. nitric. 2,0, Aqua dest. 18,0, Alkohol 95% 10,0. Differenziren in Eisessig oder verdünnter Essigsäure und Auswaschen in Wasser. Später wurde diese UNNA'sche Methode mit einer Durch- und Nachfärbung in Alaunkarmin kombinirt. So färbt HANSEN die in FLEMMING'scher Lösung fixirten Präparate zuerst in Alaunkarmin durch, die Schnitte werden in der UNNA'schen Dahlialösung gefärbt, dann Wasser, Alkohol und Nachspülen in Alaunkarmin. Kerne roth, elastische Fasern blau.

Auch zur isolirten Darstellung der Bindegewebs- und Gefässzellen im Centralnervensystem ist der Farbstoff in Verbindung mit Eosin von REHM empfohlen worden. Fixation in Alkohol, Celloidineinbettung. Färbung der Schnitte wenige Minuten in 1%igem wässerigem Eosin, Abspülen in Wasser und Alkohol, dann für einige Minuten in warme wässerige 0,1%ige Dahlialösung, Differenziren in Alkohol, Origanumöl, Balsam.

Auch als Färbungsmittel für Bakterien hat der Farbstoff Eingang gefunden. So benutzt RIBBERT zur Färbung der Pneumoniebacillen eine Mischung von 100 Ccm. koncentrirter wässeriger Dahlialösung, 50 Ccm. Alkohol. 12,5 Ccm. Eisessig. Färbung einige Sekunden, Abspülen in Wasser, Trocknen, Balsam.

REED empfiehlt für Celloidinmaterial zur Bakterienfärbung eine Mischung von 20 Ccm. gesättigter alkoholischer Dahlialösung und 100 Ccm. destillirten Wassers. Färbung 15—30 Minuten, Auswaschen in 95%igem Alkohol, bis das Celloidin entfärbt ist.

Litteratur: Huguenin (Corresp. Schweiz. Aerzte, 1874), Ehrlich (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1876), Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 5, 1886), Hansen (Virch. Arch., Bd. 137, 1894), Rehm (Münch. med. Woch., 1892), Ribbert (Deutsche med. Woch., 1885), Reed (Trans. Amer. micr. Soc., Bd. 19, 1897).

Damarharz ist das Harz einer auf den Molukken heimischen Conifere, Damara orientalis. Es bildet farblose oder ganz schwach gelbliche, durchsichtige, leicht zerreibliche Stücke, welche enthalten Damarylsäure und ein indifferentes Harz. Es schmilzt bei 100°, hat ein spec. Gew. von 1,04 bis 1,12 und ist vollkommen löslich in Aether, warmem Alkohol, Chloroform, Xylol, Benzin und ätherischen Oelen. Brechungsexponent bei 20° 1,520.

Damarharz ist an Stelle von Kanadabalsam vielfach als Einschlussmittel, besonders für in Anilinfarben gefärbte Präparate empfohlen worden, so von Flemming, Pfitzner, Martinotti und Resegotti, Koch und anderen. Man löst das gepulverte Harz am besten entweder in Xylol oder in einer Mischung von gleichen Theilen Terpentinöl und Benzol. Man nehme zunächst viel Flüssigkeit, lasse einige Tage unter öfterem Schütteln stehen, filtrire und lasse die Lösung bis zur gewünschten Konsistenz verdunsten.

Litteratur: Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 19, 1881), Pfitzner (Morph. Jahrb., Bd. 6, 1880), Martinotti und Resegotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Koch (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893).

Darm. Will man, wie das wohl meistens der Fall ist, die sämmtlichen Theile der Darmwand in situ fixiren und dann an Schnittpräparaten studiren, so wird man bei grösseren Thieren den Darm fast immer vor der Fixation öffnen müssen. Da die dicke Darmmuskulatur das Eindringen der Fixationslösung nur langsam gestattet, kann das Epithel schon macerirt sein, bevor es fixirt wird. Am besten ist es allerdings, wenn man die auf Körpertemperatur erwärmte Fixationslösung von der Aorta oder bei grösseren Thieren von einem Aste der Art. mesenterica aus injicirt und dann kleinere Stücke des Darms in toto in die Fixationslösung einlegt. Nach dem Auswaschen und Entwässern kann man dann die Stücke in 95%igem Alkohol beliebig zerkleinern. Man vermeidet so eine Verletzung des Epithels, die beim Aufschneiden des frischen Darmes sehr leicht eintreten kann.

Will man den Darm nicht mit dem Fixationsmittel injiciren, so muss man ihn an der dem Mesenterialansatz gegenüberliegenden Seite aufschneiden und kleinere Stücke auf Kork oder besser dünne Wachsplatten mit Igelstacheln aufspannen und fixiren. Ein Abspülen mit Kochsalzlösung vor der Fixation zur Entfernung der Ingesta ist dringend zu widerrathen, da dadurch sehr leicht das Epithel verletzt wird. Man kann die anhaftenden Ingesta viel leichter entfernen, wenn das Präparat schon in starkem Alkohol liegt.

Nur bei kleinen Thieren, Maus, Vögel, Frosch etc. ist es nicht nöthig, den Darm aufzuschneiden, man kann ihn dann in toto fixiren.

Was die Wahl der Fixationslösung anbetrifft, so wird von den meisten Autoren die koncentrirte wässerige Sublimatlösung bevorzugt (R. Heidenhain, Kuczynski, Steinhaus, Kingsbury) oder sublimathaltige Lösungen, so Kultschitzky (Kaliumbichromat 2 Grm., Sublimat 0,25, 96%igen Alkohol 50, 2%ige Essigsäure 50), Schirmann (Zenker'sche Lösung), Lenhossék (Sublimat 2 Grm., Kochsalz 0.4 Grm., Eisessig 5 Ccm., 70%iger Alkohol 100), Mingazzini (koncentrirtes wässeriges Sublimat 2 Theile, Eisessig 1 Theil, absoluter Alkohol 1 Theil), Cloetta (10%iges warmes Kochsalzsublimat). Wir möchten von allen Sublimatgemischen der auf Körpertemperatur erwärmten Zenker-schen Lösung den Vorzug geben. Nur für Amphibien dürfte derselben die koncentrirte wässerige Sublimatlösung mit 0,5—1% Essigsäure vorzuziehen sein. Von anderen Fixationslösungen empfiehlt Kuczynski Perényi und schwache Flemming'sche Lösung für den Menschen, Paneth koncentrirte

wässerige Pikrinsäure, R. HEIDENHAIN ebenfalls Pikrinsäure oder Alkohol, BIZOZZERO für den Hund HERMANN'sche Lösung oder Alkohol, für die Maus koncentrirte Pikrinsäure, für Petromyzon Alkohol, CLOETTA für den Vogeldarm 3%ige Salpetersäure, doch erhält sie nicht den Schleim, KINGSBURY für Necturus Pikrinalkohol (95%igen Alkohol 250, Wasser 250, Pikrinsäure 1 Grm.), SCHIRMANN für Meerschweinchen 3%ige Salpetersäure oder FLEMMING'sche Flüssigkeit, HOPKINS für Ganoiden Pikrinalkohol (Wasser und 95%igen Alkohol aa. 250, Pikrinsäure 1,0 Grm.), MÖLLER Formolbichromat (3%iges Bichromat 40, Formol 10) 24 Stunden, dann 3%iges Bichromat 3—4 Tage, M. HEIDENHAIN für Amphibiendarm koncentrirte Salicylsäure in $^1/_3$ Alkohol. Sie soll Schleimgranula und Bindegewebe glänzend konserviren.

Zur Isolation des Darmepithels eignen sich Drittelalkohol, 5%iges Ammoniummonochromat (R. HEIDENHAIN), verdünnte MÜLLER'sche Flüssigkeit, $^1/_4$—$^1/_{10}$%ige Osmiumsäure (KINGSBURY) oder verdünnter Pikrinalkohol. Zur Isolation der Muskulatur 33,5%ige Kalilauge, 20%ige Salpetersäure, Aufheben in koncentrirtem wässerigen Alaun mit 2% Kalilauge (HOPKINS).

Von Färbungsmethoden kommen einmal die verschiedenen Methoden der Schleimfärbung in Anwendung (siehe dort), auch die zahlreichen Dreifarbengemische geben gute Resultate, so vor allem die EHRLICH-BIONDI'sche (siehe dort), die GRÅBERG'sche (siehe Bordeaux), VAN GIESON'sche (siehe Hämatoxylin), BERGONZINI'sche (siehe Goldorange), OPPEL'sche (siehe Methylgrün) etc.

Ueber die Untersuchung der Blut- und Lymphgefässe des Darms vergl. Injektionsmethoden.

Für die Darstellung der Darmnerven hat sowohl die Goldimprägnation als auch die Methylenblaufärbung Verwendung gefunden. Von ersteren eignet sich nach OBREGIA am meisten die RANVIER'sche Citronensaftmethode. Man kann nach der Vergoldung die Muskelschichten von einander trennen und zu Flächenpräparaten verarbeiten. Zur vitalen Methylenblaufärbung kann man entweder mit einer dünnen Methylenblaulösung eine abgebundene Darmschlinge prall injiciren, 1—2 Stunden einwirken lassen, dann die Schleimhaut entfernen und warten, bis die Bläuung eingetreten ist, oder man färbt die von der Mukosa entblössten Darmmuskelstücke auf dem Objektträger mit Methylenblau. Zur Darstellung der Epithelnerven des Darmes empfiehlt sich mehr die Golgimethode. (Näheres siehe Goldmethoden, Methylenblaufärbung, vitale, und Golgimethode.)

Zum Studium der Fettresorption im Darm kann man die Thiere mit einem beliebigen Fett füttern, am besten Milch, und dann die Darmstückchen in Osmium fixiren. KREHL bläst zu diesem Zwecke Fröschen, die mindestens 14 Tage gehungert haben, 6—10 Tropfen Olivenöl oder süsse Sahne in den Oesophagus. Nach einiger Zeit werden die Thiere getödtet, der obere Theil des Darms aufgeschnitten und in Osmiumbichromat fixirt. (Osmium 1,0, Bichromat 2,5, Wasser 100). Zur Ueberführung in Paraffin müssen natürlich Intermedien gewählt werden, welche osmirtes Fett nicht angreifen. (Näheres siehe Osmiumsäure.)

Litteratur: R. HEIDENHAIN (PFLÜGER's Arch., Bd. 43, Suppl. 1888), KUCZINSKI (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 7, 1890), STEINHAUS (Arch. Phys., 1892, Suppl.), KINGSBURY (Proc. Amer. Micr. Soc., 1894), KULTSCHITZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897), SCHIRMANN (Verh. Phys. Med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 32, 1898), LENHOSSÉK (Anat. Anz., Bd. 16, 1899), MINGAZZINI (Atti Real. Ac. Lincei. Rend., Bd. 9, 1900), CLOETTA (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), PANETH (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1887), BIZOZZERO (Atti Real. Ac. Sc. Torino, Bd. 24, 1889, und Bd. 27, 1891/92), HOPKINS (Journ. Morph., Bd. 11, 1895), MÖLLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 66, 1899), M. HEIDENHAIN (Sitz. Phys. Med. Ges. Würzburg, 1899), OBREGIA (Verh. X. inter. med. Congr. Berlin 1891), KREHL (Arch. Anat. Phys., 1890).

Deckgläser und Objektträger, Reinigen derselben. So, wie die Deckgläser und Objektträger von dem Händler bezogen werden, können sie

nicht direkt benutzt werden, sondern müssen erst, besonders gilt das für die zur Blutuntersuchung benützten Deckgläser, einer gründlichen Reinigung unterworfen werden. Man legt sie am besten für einige Stunden in koncentrirte Schwefelsäure oder Eisessig, wäscht gründlich zuerst in fliessendem, dann in destillirtem Wasser aus und bringt dann in Alkohol und Aether. Objektträger kann man ebenso behandeln oder sie nach de Groot zunächst mit angefeuchteter Schlemmkreide poliren und dann mit einem Tuche trocken reiben.

Von gebrauchten Objektträgern muss man zunächst durch mehrtägiges Einlegen in Xylol oder Terpentin die Deckgläser losweichen, dann kocht man am besten nach Zettnow in einer heiss bereiteten 20%igen Lösung von Kaliumbichromat, der man 20% Schwefelsäure zusetzt, 10 Minuten lang, spült gut mit Wasser aus, dann 1%ige Natronlauge und wieder Kochen und nochmals Lauge, Abspülen, Alkohol. Oder man kocht nach Funck im Wasserbad in Salzsäure, der auf 30 Ccm. 2—3 Messerspitzen chlorsaures Kali zugesetzt sind, bis zur Entfärbung, spült in heissem Wasser ab und erhitzt unter öfterem Umschwenken in einer mit Wasser zu Brei angerührten Mischung von gleichen Theilen Soda, gesiebten Sägespänen und Talcum ½ Stunde lang, dann Abspülen in mit Salzsäure angesäuertem heissen Wasser, reines heisses Wasser, Aetheralkohol, Abtrocknen.

Litteratur: de Groot (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), Zettnow (Centr. Bakt., Bd. 15, 1894), Funck (Centr. Bakt, Bd. 16, 1894).

Deckglaskitte. Früher spielten die Deckglaskitte oder Verschlusslacke in der Mikrotechnik eine grosse Rolle, und eine ganze Anzahl verschiedener Vorschriften zur Herstellung solcher Kitte sind angegeben worden. Heute, wo die überwiegende Mehrzahl der mikroskopischen Präparate in fest erstarrenden Balsam eingeschlossen wird, haben diese Dinge nur noch geringen Werth. doch wird man sie wohl nie ganz entbehren können, weil die flüssigen Einschlussmedien wohl nie ganz verschwinden werden.

Ein guter Deckglaskitt soll einen vollständigen Abschluss des Präparates liefern, und ein Verdunsten des Einschlussmediums verhindern, er soll das Deckglas fest mit dem Objektträger verbinden, soll nicht zu spröde sein, damit er nicht splittert und soll eine Betrachtung des Präparates mit Immersionslinsen gestatten, also durch Cedernöl nicht angegriffen werden und eine Reinigung des Deckglases vom Oel erlauben.

Der bekannteste Deckglaskitt, der auch den meisten dieser Anforderungen entspricht. ist der Krönig'sche Lack. Er wird so hergestellt, dass man zu 2 Theilen geschmolzenen Wachses 7—9 Theile Kolophonium setzt. Von den zahlreichen anderen Deckglaskitten, deren Zusammensetzung theils unbekannt ist, leistet der Heydenreich'sche Bernstein-Kopallack das Beste. Zu seiner Herstellung löst man 25 Theile besten hellen Bernsteins und 25 Theile härtesten Zanzibarkopals unter starkem Erhitzen (170°) in 50 Theilen Leinölfirniss, lässt etwas abkühlen. setzt der noch heissen Lösung 50 bis 60 Theile Lavendelöl zu, und verreibt auf einer matten Glasplatte 40 bis 60 Theile künstlichen Zinnobers damit.

Beim Gebrauch trägt man den Deckglaskitt mit einer heissen, dreieckigen Spatel auf, legt zuerst die vier Ecken des Deckglases fest und dann die Kanten. Wichtiger als die Zusammensetzung des Verschlusslackes ist die Regel, dass die Einschlussflüssigkeit nicht über den Rand des Deckglases hinausgehen darf, man muss deshalb bei dünnen Objekten einen möglichst kleinen Tropfen nehmen.

Litteratur: Krönig (Arch. mikr. Anat., Bd. 27, 1886), Heydenreich (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885).

Deckglaspincetten. Zum Halten der Deckgläser, besonders für Anfertigung von Blutpräparaten hat man besondere Pincetten konstruirt, deren bekannteste, in vielen Modifikationen verbreitet, die CORNET'sche ist. Durch die federnden, über Kreuz gebogenen Branchen desselben wird das Deckglas fixirt und braucht während der verschiedenen Manipulationen nicht mit den Fingern berührt zu werden.

Deckglasdicke, Messung der. Während für schwache und mittelstarke Systeme die Dicke des Deckglases von keiner Bedeutung ist, spielt dieselbe bei stärkeren Objektiven eine sehr wichtige Rolle. Man unterscheidet in dieser Beziehung feste Fassung des Objektivs und Korrektionsfassung. Bei der ersteren ist das Objektiv auf eine bestimmte Deckglasdicke ein- für allemal eingestellt (ZEISS 0,15—0,2 Mm., wo nicht anders angegeben, LEITZ 0,17 Mm.), bei den Korrektionsfassungen kann durch einen Korrektionsring der Abstand der beiden Linsensysteme des Objektivs geändert und auf die vorhandene Deckglasdicke eingestellt werden.

Da die von den Lieferanten angegebene Deckglasdicke durchaus nicht immer der Wirklichkeit entspricht, empfiehlt es sich, in wichtigen Fällen die Dicke des verwendeten Deckglases selbst zu messen. Man bedient sich dazu der sogenannten Deckglastaster. Die Firma ZEISS bringt einen solchen Taster in den Handel, der aus einer Dose besteht, aus der seitlich eine Zange hervortritt. Zwischen die Branchen der letzteren wird das Deckglas gehalten und die Dicke dann von einem auf dem Deckel in einer Kreistheilung spielenden Zeiger abgelesen. In der Hand des Unkundigen giebt der Apparat leicht zu hohe Werthe, wenn das Deckglas etwas schief in die Zange gesetzt wird.

Deckglastrockenpräparate siehe Blut und Trockenpräparat.

Definirebenen und Linien siehe Rekonstruktion, plastische.

Dekapoden siehe Arthropoden.

Delafield'sches Hämatoxylin siehe Hämatoxylin.

Deltapurpurin, ein Amidotetrazofarbstoff (Bindschedler). Rothbraunes, in Wasser mit rother Farbe lösliches Pulver. Die wässerige Lösung giebt mit Eisessig oder Salzsäure braunen, mit Natronlauge rothen Niederschlag.

Von ZSCHOKKE ist es in wässeriger Lösung zur Nachfärbung nach Hämatoxylin empfohlen worden.

Litteratur: ZSCHOKKE (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888).

Demonstrationsmikroskop. Um einem grösseren Auditorium mikrokospische Präparate zu demonstriren, auch während des Vortrages, hat man Instrumente konstruirt, die von Hand zu Hand gehen können. Ein solches mit Handgriff versehenes Instrument von LEITZ zeigt nachstehende Fig. 7. Es ist mit Kondensor, Irisblende und Mikrometerschraube versehen und kann auch noch mit Vortheil für starke Vergrösserung benutzt werden. Eine federnde Klemme am Tubus erlaubt das Einstecken einer Beschreibung oder Skizze des zu demonstrirenden Präparats.

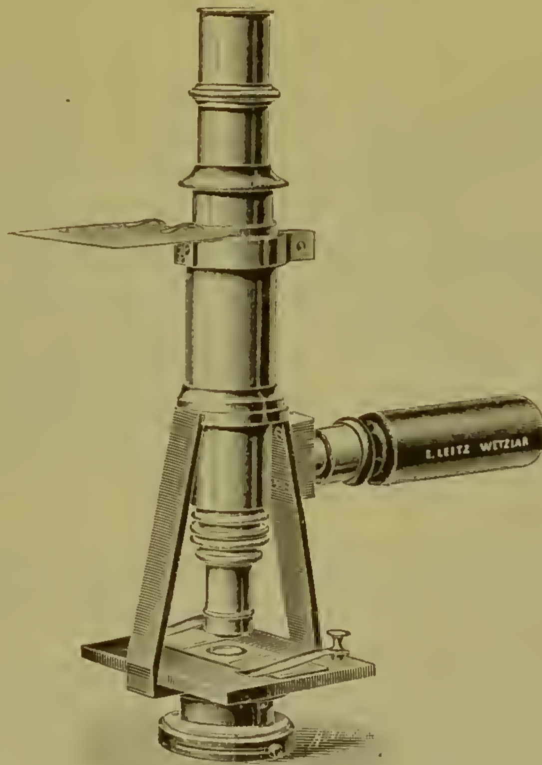
Dendrocölen siehe Würmer.

Dentin siehe Knochen und Zähne, Methoden zur Bearbeitung derselben.

Desmidiaceen siehe Conjugaten.

Destillirtes Wasser. Absolut reines destillirtes Wasser ist ausserordentlich schwer herzustellen, es darf nicht aus Glas- oder Porzellangefässen destillirt und nicht in solchen aufbewahrt werden, da sie mit der Zeit von ihm angegriffen werden. Der ganze Destillirapparat, Retorte, Kühlschlange und Vorlage müssen aus Platin bestehen. Ein solches absolut reines destillirtes Wasser ist aber für mikrotechnische Zwecke wohl niemals nöthig (nur Apáthy verlangt ein solches für seine Hämateïnthonerdefärbung der Neurofibrillen). Von einem guten destillirten Wasser muss man verlangen, dass es frei von Säuren, Ammoniak und organischen Substanzen sei. Man stellt sich am besten sein destillirtes Wasser selbst her, indem man es aus einer kupfernen oder gläsernen Blase oder Retorte destillirt. Ist das zu benutzende Wasser (Brunnen- oder Leitungswasser) mit organischen Substanzen verunreinigt, so setzt man ihm vor der Destillation etwas Kaliumpermanganat zu.

Fig. 7.



Prüfung auf Ammoniak: Durch Zusatz von Nessler'schem Reagens (5 Tropfen und 10 Ccm. Wasser) darf keine Gelbfärbung entstehen.

Schwefelsäure. Man säuert das Wasser mit Salzsäure an und versetzt mit etwas Chlorbaryumlösung, es darf keine Trübung entstehen.

Chlor. Versetzt man das Wasser mit Salpetersäure und etwas Silbernitratlösung, so darf sich keine Opalescenz zeigen.

Organische Substanzen. Versetzt man 100 Ccm. Wasser mit 1 Ccm. verdünnter Schwefelsäure (1 : 5). kocht und setzt 0,3 Ccm. $1^0/_0$igen Kaliumpermanganats zu, so darf beim weiteren Kochen die Flüssigkeit nicht entfärbt werden.

Man soll destillirtes Wasser möglichst staubfrei aufheben in gut schliessenden Gefässen.

Destillirtes Wasser, Vorsichtsmassregeln bei der Verwendung zur Larvenzucht siehe Experimentell embryologische Methoden.

Dextrin. Das käufliche Dextrin wird durch Einwirkung von Hitze (230—260°) oder Säuren oder Diastase auf Stärke dargestellt und ist gewöhnlich durch Traubenzucker verunreinigt. Es kommt in Form eines gelbbraunen oder weissen Pulvers oder farbloser Stücke in den Handel, ist in der gleichen Menge Wasser löslich, in Alkohol und Aether unlöslich. Die Lösung ist stark rechtsdrehend.

In der Mikrotechnik ist es als Einbettungsmasse benutzt worden, ausserdem findet es Verwendung als Unterguss mit Zucker zusammen bei der Aufklebemethode von Obregia (Näheres siehe Aufklebemethoden).

Dextrin siehe auch Stärkekörner.

Dextrose (Traubenzucker) siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Diaphragma siehe Zwerchfell.

Diastase siehe Enzyme.

Diatomeen. Die durch ihre fein gezeichneten Kieselskelette leicht erkennbaren Diatomeen sind überall auf Wasserpflanzen und grösseren Algen des Süss- und Meerwassers in grosser Artenzahl erhältlich. Ihre Lebendbeobachtung (eventuell auch Kopulationsvorgänge) geschieht vortheilhaft auf einem gut gereinigten, völlig benetzbaren Objektträger, der in frisch gesammeltes Diatomeenmaterial schräg aufgestellt wird; er ist bald mit Diatomeen bedeckt und können sie dann eventuell gleich auf ihm fixirt und gefärbt werden. Eine gewisse Trennung kann dadurch herbeigeführt werden, dass das Material in Musselinsäckchen in die Kulturflüssigkeit, etwa auf einem Suppenteller, gebracht wird, wo dann die beweglichen Formen durch die Maschen nach aussen wandern; auch sammeln sich eine grosse Reihe von Formen bei Belichtung an der Oberfläche zu einem Häutchen an und können dann eventuell mit einem Kartenblatte abgehoben werden. Reinkulturen werden am zweckmässigsten in der Miquel'schen Kammer vorgenommen, eine gewöhnliche, feuchte Kammer, in der im Objektträger ein excentrisches Loch gebohrt ist. Zur Kultur der Süsswasserformen wird Flusswasser mit Grasstücken, Kleie, Moosstückchen und dergl. versetzt. 8 Tage nach der Aussaat pflegt das Material üppig zu wachsen.

Als Diatomeennährlösung, die gleichfalls mit etwas Stroh oder Moos zu versetzen ist, wird auch speciell empfohlen:

A. Magnesiumsulfat 10 Grm., Chlornatrium 10 Grm., Natriumsulfat 5 Grm., Ammoniumnitrat 1 Grm., Kaliumnitrat 1 Grm.. Natriumnitrat 1 Grm., Bromkalium 0,2 Grm., Jodkalium 0,1 Grm., Wasser 100 Ccm.

B. 1. Natriumphosphat 4 Grm. in 40 Ccm. Wasser, 2. Chlorcalcium 4 Grm. in 40 Ccm. Wasser, 3. Salzsäure, rein, 22°, 2 Ccm. + Eisenchlorid, 45°, wässerig, 2 Ccm.

Der Niederschlag ist nicht abzufiltriren. Auf 1 Liter Flusswasser kommen 40 Tropfen *A* und 20 Tropfen *B*. Alle 14 Tage muss das abgedunstete durch destillirtes Wasser ersetzt werden. — Für Meeresdiatomeen wird von folgender Lösung 1 Ccm. auf 200 Ccm. filtrirten Quellwassers gegeben, mit gelöschtem Kalk neutralisirt und ein wenig pulverisirte Kieselerde und sterilisirte Grasinfusion hinzugefügt: Chlornatrium 10 Grm., Natriumsulfat 5 Grm., Kaliumnitrat 2,5 Grm., Kaliumpyrophosphat 2,5, Wasser 100 Grm.

Zur Fixirung und Färbung dienen ausser den bei den Chlorophyceën angegebenen für specielle Organe folgende Methoden: Für die allgemeine Lage der Zellorgane des Plasmas, der Chromatophoren etc. Pikrinschwefelsäure plus 1 Tropfen 1%iger Osmiumsäure, für Chromatophoren und Leukoplasten 1%ige Chromessigsäure und Gentianaviolett. Für Kerntheilung ist Flemming's Fixirung und eine schwache Lösung von Delafield's Hämatoxylin bei weitem das Beste. Zur Darstellung der »rothen Körnchen« Bütschli's dient 45%iger Jodalkohol mit Hämatoxylinfärbung, für Centrosomen, resp. Centralspindel siehe Centrosomen im Pflanzenreich. — Das Studium der Schalenstruktur wird meist am Kieselskelett nach Entfernung aller organischen Substanzen vorgenommen. Unter den zahlreichen auch zur Darstellung von Testobjekten angegebenen Methoden sei folgende hervorgehoben: Reines Material wird bis 2 Minuten im Reagensrohr mit Salpetersäure gekocht, dekantirt, wiederholt mit Wasser dekantirt, behandelt mit verdünntem Ammoniak und in Alkohol aufbewahrt. Enthält das Material viel organischen oder anorganischen Detritus, so wird zur Salpetersäure Schwefelsäure gefügt und minutenlang gekocht, der noch warmen Flüssigkeit mit einem Glasstabe tropfenweise eine Lösung von chlorsaurem Kali zugefügt, bis das Ganze völlig klar ist, eventuell hat die ganze Operation noch einmal zu geschehen. Auswaschen und Aufbewahren wie oben. Zur Anfertigung von Dauerpräparaten werden die in Alkohol suspendirten Schalen auf ein Deckglas gebracht und abgebrannt, wodurch sie gut ausgebreitet werden, und dann in dicken Kanadabalsam eingeschlossen.

Zum genauen Verständniss der Skulptur, Poren, Leisten wird das Eindringen gefärbter Flüssigkeiten oder Gummi arabicum unter dem Mikroskop verfolgt. — Die Kieselsäure wird durch Fluorwasserstoffsäure in 24stündiger Behandlung im Platintiegel auf dem Wasserbade entfernt. Von der Zellwand bleibt manchmal ein organisirtes Häutchen zurück, oft auch nur der Zellinhalt. Geschieht die Anwendung der Fluorwasserstoffsäure unter dem Mikroskop, so müssen die Linsen durch ein mit Cedernholzöl aufgeklebtes Glimmerplättchen geschützt werden.

Litteratur: van Heurk (Traité des diatomées, Anvers 1899, ref. Zeit. wiss. Mikr., 1899), Strassburger (Gr. bot. Prakt., 1897), Lauterborn (Diatomeen, 1897).

Magnus, Berlin.

Diatomin siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanze.

Differenziren siehe Färbung.

Digitalin siehe Glykoside.

Dimethylorange, Syn. für Goldorange.

Dinitroresorcin siehe Solidgrün O.

Diphenylamin dient zum Nachweis von Nitraten und Nitriten in Pflanzenzellen (0,01—0,1 Grm. auf 10 Ccm. Schwefelsäure).

Diphenylaminblau, Syn. für Methylblau.

Diphtheriebacillus: Der Erreger der Rachendiphtherie wurde zuerst von Loeffler [1]) genauer beschrieben, nachdem vor ihm schon Klebs den gleichen Bacillus in diphtheritischen Membranen der Rachenschleimhaut gesehen hatte.

Ausser in diesen findet er sich häufig auch bei Erkrankungen der anderen Theile des Respirationstraktus, von der Nase bis hinab zu den feinsten Alveolen, ferner bei Erkrankungen des Auges und des Ohres, sowie der Vagina vor, schliesslich auch auf Wunden, deren normalen Heilungsverlauf er hemmt.

Weiterhin kann er sich aber auch nach Ablauf der Krankheit noch lange auf dem genesenen Organ aufhalten, ja sogar, wenn auch selten und unter meist feststellbarem Zusammenhang mit kranken Menschen, bei völlig Gesunden vorkommen.

Die häufigste Lokalisation besteht im Rachen. Der Nachweis des Diphtheriebacillus an Schnitten von Rachenmembranen, bezw. von mit Membranen bedeckten Organstücken gelingt nach der üblichen Fixirung und Einbettung des Materials in vielen Fällen durch Färbung mit Loeffler's Methylenblau oder nach der Methode von Gram.

In vielen Fällen ist eine schnellere Entscheidung erforderlich oder zur Anfertigung von Schnitten geeignetes Material nicht vorhanden. Es genügt dann oft, besonders in vorgeschritteneren Stadien der Erkrankung, mittels eines Wattebausches etwas Schleim von der erkrankten Stelle abzuwischen und Ausstrichpräparate mit verdünnter Karbolfuchsinlösung nach der Gram-schen Methode und nach M. Neisser's [2]) Doppelfärbung davon anzulegen, um in demselben die Diphtheriebacillen zu konstatiren. Bei der grossen Verbreitung derselben auf die verschiedensten Organe und Krankheitsprocesse aber ist es selbstverständlich, dass dieses einfache Verfahren nicht immer zum Ziele führen kann und man zum Kulturverfahren greifen muss. Der hierzu allgemein als geeignetster erkannte Nährboden ist das Loeffler-sche Serum. Dasselbe wird folgendermassen hergestellt: Man lässt eine grössere Menge Rinderblut in einem hohen Standcylinder an einem kühlen Orte absetzen und füllt das nach einigen Tagen abgepresste Serum mittels Pipette in gut verschliessbare Flaschen über. Zu denselben wird, falls der

Verbrauch nicht sogleich erfolgt, etwa 5% Chloroform zugesetzt, dasselbe durch kräftiges Schütteln gut durchgemischt und die Flaschen im Eisschrank verwahrt. Vor der Anfertigung des Nährbodens muss man das Chloroform durch längeres Stehenlassen in einem weiten Gefässe (über Nacht im Eisschrank) wieder entfernen. Man macht nun ein Gemisch von 3 Theilen Serum, 1 Theil neutraler Fleischwasserbouillon und 1% Dextrosezusatz, giesst es in sterile Petrischalen und bringt es durch langsames Erhitzen auf 100° zum Erstarren.

Auf diesen opak durchscheinenden Platten werden nun mit dem zur Entnahme verwandten Wattebausch (die grösseren Centraluntersuchungsstationen[3]) geben im allgemeinen sterile, mit Watte armirte und in sterile Röhrchen eingeschlossene Entnahmeapparate aus) 6—8 parallele, von einander getrennte Striche gemacht und die Platten in einen Brütschrank von 34—35° gebracht. Dieselben werden nach 6—8 Stunden mittels Klatschpräparats untersucht. Dasselbe wird mit verdünnter Karbolfuchsinlösung gefärbt, eventuell ein zweites nach der GRAM'schen Methode. Sieht man in diesen Präparaten Häufchen typischer Diphtheriebacillen, so ist die Diagnose mit Sicherheit abzugeben. Derartige Häufchen bestehen aus wirr durcheinander geworfenen, oft V- oder Y-förmig zusammenstehenden, oft wie die gespreizten Finger beider Hände über einander liegenden Stäbchen von keilförmiger, oft leicht gekrümmter Gestalt.

Meist liegen natürlich noch andere Bakterien, vor allem Kokken, zwischen und neben ihnen. Sieht man jedoch in 6 Präparaten lediglich Kokken, so ist schon jetzt die Diagnose negativ zu stellen. In allen andern Fällen und in Augenfällen mit anscheinend sicherem positiven Befund wartet man weitere 6—12 Stunden ab und macht nun von möglichst vielen Stellen der Platte Ausstrichpräparate. Dieselben werden theils mit gewöhnlicher Karbolfuchsinlösung, theils nach der sogenannten M. NEISSER'schen Doppelfärbung gefärbt. Die Vorschrift zu derselben lautet: Methylenblau. 1 Grm. pulverförmiges Methylenblau (GRÜBLER) in 20 Ccm. 96%igen Alkohols gelöst; dazu 950 Ccm. Wasser und 50 Ccm. Eisessig. Ferner Vesuvin, 2 Grm. in 1000 Ccm. kochenden Wassers gelöst. Beide Lösungen filtrirt. Färbung: Eintauchen des Präparates 1—3 Sekunden in das Methylenblau, Abspülen mit Leitungswasser, Eintauchen in die Vesuvinlösung 3—5 Sekunden, wieder Abspülen in Leitungswasser.

Nach dieser Färbemethode ist der Leib der Diphtheriebacillen schwach braun gefärbt und trägt an einem der beiden Enden, manchmal in der Mitte ein dunkelblauschwarz gefärbtes ovales, die Kontur des Bacillus anscheinend etwas überragendes Körnchen. Diese »typische« Form der Doppelfärbung tritt aber nur auf Rinderserum (nicht Pferdeserum), bei 34—35° Blutwärme und in der Zeit zwischen der 9. und höchstens 24. Stunde des Wachsthums auf. Die dem Diphtheriebacillus morphologisch ähnlichen Bacillen zeigen unter diesen Bedingungen diese Erscheinung nicht.

Die älteren Kulturen zeigen die Bacillen meist viel grösser, nicht mehr recht keilförmig, oft zu grotesken Involutionsformen ausgebuckelt. In seltenen Fällen findet man die von C. FRÄNKEL[4]) genauer beschriebene Bildung von verzweigten Formen.

Von derartigen Serum-Ausstrichplatten gelingt es nun meist auch unschwer, durch Anlegung weiterer Platten Reinkulturen des Diphtheriebacillus zu gewinnen und seine Morphologie in Reinkultur zu studiren. Es ergiebt sich hierbei, dass seine Gestalt je nach dem Nährboden schwankt. Auf neutralem Agar und ebenso auf Glycerinagar giebt er meist kleinere Formen als auf der Serumplatte. Die Involutionsformen treten früher, die Doppelfärbung sehr viel später auf. Die Kolonien stellen sich als feine, gekörnte, mit unregelmässigem Rande versehene Gebilde dar.

Auf Gelatine lassen sich nur sehr spärliche, kleine Kolonien erzielen.

Litteratur: [1]) LOEFFLER (Mit. a. d. kais. Gesundheits., Bd. 2, 1884), [2]) NEISSER (Zeit. Hyg., Bd. 24, 1897), [3]) NEISSER & HEYMANN (Klin. Jahrb., Bd. 7, 1899), [4]) FRÄNKEL (Hyg. Rund., 1896).

Heymann, Breslau.

Dipteren siehe Arthropoden.

Direkte Kerntheilung, künstliche, bei Spirogyra siehe Conjugaten.

Dissociation siehe Maceration.

Doppelbrechung siehe Polarisationsmikroskop.

Doppelfärbung siehe Färbung.

Doppelmesser. Die Doppelmesser dienen zur Anfertigung möglichst dünner Schnitte von frischen, weichen Geweben. Zuerst von VALENTIN angegeben, ist das Doppelmesser seit dieser Zeit vielfach modificirt worden und besteht in seiner vollkommensten Konstruktion (SCHIEFFERDECKER), wie

Fig. 8.



Fig. 8 zeigt, aus zwei Messern, deren Schneiden durch einen zwischen den Stielen angebrachten Keil genähert und entfernt werden können, und zwar so, dass dieselben immer parallel stehen. Die Schnittdicke kann an einer an dem Stiele angebrachten Theilung abgelesen werden.

Doppelspath siehe Polarisationsmikroskop.

Doppeltchromsaure Salze siehe Chromsaure Salze.

Doppelte Einbettung siehe Celloidin.

Dotterkern. Zur Demonstration des Dotterkernes eignen sich am besten die Eier der Hausspinnen Tegenaria domestica (SCHULZ). Der Hinterleib wird abgetrennt, in der Mittellinie durchschnitten und mit zwei stumpfen Nadeln ohne Verletzung der Spinndrüsen die traubigen Ovarien isolirt. Untersuchung in künstlichem Jodserum nach FREY. (Auf 30 Ccm. Hühnereiweiss nimmt man 2.5 Grm. Kochsalz, 270 destillirtes Wasser und 10 Bittermandelwasser, Umrühren und Filtriren durch Watte.)

Kappenförmige Dotterkerne findet man bei Pholcus phalangioides (VAN BAMBEKE). Konservirung der Ovarien in HERMANN'scher Lösung. Färbung der Schnitte mit Safranin. BISOGNI behandelt die Eier von Salticus und Scutigera entweder mit 1%iger Osmium- oder 1%iger Pikrinsäure. Im ersten Fall färbt sich der Dotterkern braun, im zweiten intensiv gelb. Die besten Resultate giebt Behandlung mit 1%iger Essigsäure und Färbung in Ammoniakkarmin.

Von Säugethieren eignen sich zur Demonstration des Dotterkerns vor allem die Ovarien von Fledermäusen (Pipistrella), neugeborenen Meerschweinchen und Ratten (HENNEGUY). Er färbt sich sehr intensiv mit Hämatoxylin, mit Safranin rosa.

Litteratur: SCHULZ (Inaug.-Diss., Bonn 1882), VAN BAMBEKE (Arch. Biol., Bd. 15, 1898), HENNEGUY (Journ. de l'Anat. Phys., 29. Jahrg., 1893).

Dreifachfärbung siehe Färbung.

Drittelalkohol siehe Maceration.

Drüsen. Allgemeines und Speicheldrüsen. Für die Bearbeitung der Drüsen spielt die Untersuchung des lebenden oder überlebenden Organs eine ausserordentlich grosse Rolle (siehe Lebendes Organ, Beobachtung desselben). Um die verschiedenen Zustände der Zellen während der Ruhe und Thätigkeit zu untersuchen, wird man entweder Thiere untersuchen, die mehrere Tage gehungert haben, und solche, die eine entsprechende Zeit nach einer reichlichen Fütterung getödtet worden sind, oder man wird zur Reizung der Drüsennerven mittels des elektrischen Stroms schreiten, oder schliesslich wird man Gifte (Alkaloide) verwenden, welche entweder die Sekretion anregen (Pilokarpin, Physostigmin, Nikotin) oder sie lähmen (Atropin). Auch die Durchschneidung der Sekretionsnerven einer Drüse kann zu wichtigen Ergebnissen über Bau und Funktion der Drüsenzellen führen.

Bei der Tödtung solcher Thiere müssen gewisse Vorsichtsmassregeln beobachtet werden, besonders dann, wenn es sich um Untersuchung ruhender Drüsen handelt. Man soll die Thiere für die Tödtung womöglich nicht fesseln, da dadurch erfahrungsgemäss bei den Speicheldrüsen schon Sekretion erregt wird. Ganz zu vermeiden sind Narkotika, wie Chloroform oder Aether oder gar Morphium, die alle lebhaften Speichelfluss veranlassen. Am besten wird man die Tödtung durch rasch ausgeführten Halsschnitt oder durch subkutane Injektion von Blausäurelösung bewirken.

Man sollte neben der Untersuchung der lebend frischen Drüsenzellen auch niemals die eingehende mikroskopische und mikrochemische Untersuchung des Drüsensekrets vernachlässigen.

Von den Fixationsmitteln, welche für die Drüsen in Betracht kommen, spielen gewiss die koncentrirte Sublimatlösung in 0,6%iger Kochsalzlösung oder die Sublimatgemische weitaus die erste Rolle. Das Sublimat besitzt die wichtige Eigenschaft, dass es die Sekretionsprodukte und auch, wenigstens zum Theil, die Vorstufen des fertigen Sekrets an Ort und Stelle fixirt. Man wird aber immer die Beobachtung machen, dass die Fixation der Drüsengranula in der Peripherie des Stückes die vollkommenste ist, deshalb gilt als Regel, dass man nur möglichst kleine Stückchen einlegt in die auf Körpertemperatur erwärmte Fixationslösung, oder aber, wo es angängig ist, die Lösung durch die zuführenden Gefässe injicirt. Das Einlegen kleinster Stücke empfiehlt sich aber auch noch aus einem anderen Grunde. Viele Drüsen, vor allem die Parotis und das Pankreas, besitzen ein ausserordentlich starkes interlobuläres Bindegewebe, das der Anfertigung feiner Mikrotomschnitte, und diese sind für die Untersuchung der Drüsen unerlässlich, einen erheblichen Widerstand entgegensetzt. Das Bindegewebe schrumpft leicht, wird sehr hart und die Schnitte bröckeln und splittern, oder die einzelnen Drüsenläppchen fallen aus. Dagegen wird das Einlegen kleinster Stückchen am besten schützen.

Die koncentrirte Sublimatlösung hat den Vortheil, dass sie alle Färbungen erlaubt, und wird darin nach unserer Erfahrung von keinem anderen Fixationsmittel übertroffen.

Natürlich sollte man immer neben dem Sublimat auch noch mindestens ein anderes Fixativ wählen, um eine Kontrolle zu besitzen; als solche empfehlen sich vor allem Osmiumgemische, wie das Altmann'sche Osmiumbichromat, die Hermann'sche oder Flemming'sche oder Podwissotzky'sche Lösung. Von anderen Angaben seien noch die folgenden angeführt: Langley fixirt in Osmiumdämpfen recht kleine Stückchen, Frenkel in einer Mischung von 15 Theilen 1%igen Palladiumchlorürs und 5 Theilen 2%igen Osmiums mit einigen Tropfen Essigsäure, Küchenmeister mit absolutem Alkohol, Zeitlin in folgender Lösung: Bichromat 2 Grm., Sublimat 0,25 Grm., 2%ige Essig-

säure 50, 96%iger Alkohol 50, GARNIER in koncentrirter wässeriger Pikrinsäure 30, Formol 10, Eisessig 2. Eine besondere Methode hat KOLOSSOW ausgearbeitet. Er bringt, indem er seiner Fixationslösung eine beträchtliche Menge eines Neutralsalzes zusetzt, die Drüsenzellen zum Schrumpfen und will so die Zellbrücken demonstriren. (Näheres siehe Intercellularbrücken.)

Zur Färbung der Drüsenschnitte eignen sich die verschiedensten Methoden, vor allem die VAN GIESON'sche, die Biondifärbung, die Eisenhämatoxylinmethode, Safranin-Lichtgrün, die ALTMANN'sche Säurefuchsinmethode, die zahlreichen Methoden zur Schleimfärbung, die R. HEIDENHAIN'sche Stückfärbung mit Chrom-Hämatoxylin (sehr zu empfehlen für Kurszwecke), Hämatoxylin-Toluidinblau nach GARNIER (siehe Toluidinblau) und viele andere.

Zur Darstellung der Sekretgänge innerhalb der Drüse kann man einmal mit leichtflüssigen Massen vom Ausführungsgang aus injiciren, oder man kann zur physiologischen Injektion mittels indigschwefelsauren Natrons schreiten (siehe dort). Mit beiden Methoden wird man bei einiger Uebung meistens zum Ziele kommen. Auch die Golgimethode giebt bekanntermassen oft sehr schöne und demonstrative, allerdings nicht immer einwandsfreie Bilder der Sekretgänge. Für Darstellung der Gänge im Schnitt eignet sich vor allem die Eisenhämatoxylinmethode, dann aber auch die Biondifärbung und die WEIGERT'sche Neurogliamethode.

Zur Nervenfärbung ist neben der Golgimethode (HUBER) vor allem die Färbung frischer Schnitte mit Methylenblau von ARNSTEIN, DOGIEL und ihren Schülern ausgeübt worden (siehe dort).

Litteratur: LANGLEY (Proc. Physiol. Soc., Bd. 2, 1889), FRENKEL (Anat. Anz., Bd. 8, 1898), KÜCHENMEISTER (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), ZEITLIN (Warschauer Universitätsnachrichten, 1898), GARNIER (Journ. de l'Anat. Phys., 36. Jahrg., 1900), KOLOSSOW (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), HUBER (Journ. exper. Med., Bd. 1, 1896). Ausführliche Litteratur bei R. HEIDENHAIN (HERMANN's Handbuch der Physiologie, Bd. 5) und KRAUSE (Arch. mikr. Anat., Bd. 49, 1897).

Durchsichtigmachen siehe Aufhellen.

Durchströmungskompressorien siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben und Experimentell embryologische Methoden.

Dysenterie siehe Parasiten, thierische.

E.

Eau de Javelle. Eine Lösung gleicher Moleküle Chlorkalium und Kaliumhypochlorit. Sie wird erhalten, indem man 20 Theile Chlorkalk mit 100 Theilen Wasser anrührt und unter Umrühren eine Lösung von 50 Theilen Kaliumkarbonat in 500 Theilen Wasser zusetzt. Man lässt absetzen und filtrirt. Oder man leitet Chlor in eine 10%ige kalte Lösung von Kaliumhydroxyd. Sie bildet eine farblose, schwach nach Chlor riechende Flüssigkeit, die kräftig bleichend wirkt, diese Wirkung verdankt sie dem Gehalt an Chlor, das schon durch die Kohlensäure der Luft aus der Lösung von Kaliumhypochlorit frei wird, daher erklärt sich auch die Unwirksamkeit alter Lösungen. Noch stärker wird die Chlorentwicklung, wenn man der Lösung geringe Mengen einer verdünnten Säure, gewöhnlich Schwefelsäure zusetzt. (Ueber die Wirkung des freien Chlors vergl. Chlorwasser.)

Aus den angeführten Eigenschaften ergiebt sich die Anwendung des Eau de Javelle zum Bleichen von thierischen Pigmenten oder zum Entfärben von Hämatoxylinfärbungen, dann zum Auflösen oder Erweichen mancher thierischer Stoffe, wie Chitin, Eigallerte (Amphibieneier), Eihüllen der Arthropoden, Aufhellen von pflanzlichen Präparaten (siehe dort) und zu ähnlichen Zwecken.

Eau de Labarraque. Dasselbe ist genau so zusammengesetzt wie Eau de Javelle, nur dass das Kalium durch Natrium ersetzt ist. Es gilt deshalb auch alles dort Gesagte.

Echinodermen. Die Totalfixation grösserer Echinodermen lässt sich durch einfaches Einlegen in die Fixationsflüssigkeit meistens nicht bewerkstelligen, da das Kalkskelet dem Eindringen der Fixationslösungen einen zu grossen Widerstand entgegensetzt. Es empfiehlt sich deshalb, entweder zwei Löcher anzubringen (Echinoiden), oder die Lösungen in die Leibeshöhle zu injiciren (Asteroideen).

Ein Betäuben vor der Fixation ist eigentlich nur bei den Holothurien nöthig, da sie sonst leicht ihre Eingeweide bei der plötzlichen Einwirkung des Fixativs herausschleudern. Zum Betäuben benutzt man nach Lo Bianco mit Vortheil Cocaïn, von dem er eine 2%ige Lösung dem die Thiere enthaltenden Seewasser zusetzt; man kann die Thiere auch ersticken dadurch, dass man sie längere Zeit in einer kleinen Menge Wasser lässt, oder sie durch eingeleitete Kohlensäure vergiften, was besonders von Uexküll für Echiniden empfohlen wird. Gerauld betäubt Holothurien dadurch, dass er sie in relativ wenig Seewasser bringt und von Zeit zu Zeit einen Theelöffel voll Magnesiumsulfat zusetzt. Auch Chloroform oder Aether dem Seewasser zugesetzt leisten zur Narkose der Holothurien gute Dienste. Um ein Zurück-

ziehen der Tentakel und ein Herausschleudern der Eingeweide zu verhindern, kann man auch den After mechanisch verschliessen und dicht hinter den Tentakeln mit einer Pincette fest zukneifen.

Als Fixationsmittel sind empfohlen worden für Holothurien: Perényi (GERAULD), 90%iger Alkohol (LO BIANCO), dünne Lösung von Formol (LEE und MAYER), für Echiniden koncentrirtes Sublimat oder mit gleichen Theilen Wasser verdünnte Pikrinsäure (WILSON), Formol (LEE und MAYER), Alkohol (LO BIANCO), für Asteroideen 0,2—0,4%ige Chromsäure, Chromessigsäure (LO BIANCO), für Ophiuroideen Pikrinessigsäure, Flemming, Hermann (DAVIDOFF), koncentrirtes Sublimat, 4%iges Bichromat (BONHARD), heisses 2%iges Sublimat, Sublimatessigsäurealkohol (2 Theile koncentrirten Sublimats, 1 Theil 70%igen Alkohols, 1 Theil Essigsäure), 0,5%ige Osmiumsäure (RUSSO), für Crinoiden 70%igen Alkohol (VOGT und YUNG) oder 90%igen Alkohol (LO BIANCO).

Von einzelnen Organen empfiehlt SAINT-HILAIRE für Echinidendarm Sublimatessigsäure, FIELD für Geschlechtsorgane Flemming, Hermann oder 3%iges Platinchlorid, BONIN für denselben Zweck eine Mischung von 20 Theilen 1%igen Platinchlorids, 20 Theilen koncentrirter Pikrinsäure, 10 Theilen Formol und 5 Theilen Ameisensäure.

Die Entkalkung erfolgt entweder durch längeres Verweilen in einem passenden Fixationsmittel, z. B. Pikrinsäure, oder in schwach mit Salpetersäure oder Essigsäure angesäuertem Alkohol.

Zur Darstellung des Skeletts kann mit Vortheil 25%ige Kalilauge benutzt werden. Auch die Anfertigung von Schliffen nach der Versteinerungsmethode von KOCH (siehe Knochen und Zähne) wird in vielen Fällen von Nutzen sein.

Für die zu entwicklungsphysiologischen Studien ja so häufig benutzten Eier der Echinodermen wird man meist mit den gewöhnlichen Fixationsmethoden auskommen, Pikrinschwefelsäure (FIELD), Pikrinessigsäure (BOVERI 95, DOFLEIN), koncentrirtes Seewassersublimat 15—30 Minuten (HAMMAR), ZENKER, Sublimatessigsäure (koncentrirtes Sublimat 2 Theile, Eisessig 1 Theil, ganz kurze Zeit, dann 2—3 Stunden reines koncentrirtes Sublimat, REINKE), BOVERI (90) fixirt und färbt die Eier gleichzeitig, indem er unter dem Deckglas 5—30 Minuten lang SCHNEIDER'schen Essigkarmin einwirken lässt, dann Eisessig und später Glycerin durchsaugt. Die Einbettung der Eier in Paraffin macht keine Schwierigkeiten. Um grössere Mengen dicht zusammen zu haben, kann man sie in abgehäutete Amphibienepidermis einhüllen (BOVERI 95). HERTWIG fixirt Echinideneier wenige Minuten in 0,1%iger Osmiumsäure, KOSTANECKI in Sublimat, Pikrinsublimat oder Sublimatsalpetersäure.

Um ältere Embryonen (Pentacrinus, Bipinnarien, Auricularien, Pluteusformen) gut ausgestreckt zu erhalten, ist es oft vortheilhaft, sie zu betäuben und dann erst zu fixiren: 0,5—1,0 Osmium (10- respektive 5 Minuten) (MC. BRIDE), koncentrirtes Seewassersublimat mit 1—2% Essigsäure (SEELIGER).

Litteratur: LO BIANCO (Mitth. Zool. St. Neapel, Bd. 9, 1890), UEXKÜLL (Mitth. Zool. St. Neapel, Bd. 12, 1896), GERAULD (Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard, Bd. 29, 1896), LEE und MAYER (Grundzüge), DAVIDOFF (Zeit. wiss. Zool., Bd. 69, 1901), BONHARD (Jena. Zeit. Natur., Bd. 34, 1900). RUSSO (Atti Real. Ac. Sc. Napoli, Bd. 5, 1892 und Ric. Lab. Anat. Roma, Bd. 4, 1895), VOGT und YUNG (Lehrbuch), SAINT-HILAIRE (Trav. Soc. Imp. Natural. St. Pétersbourg, Bd. 27, 1897), FIELD (Quart. Journ. Micr. Sc., Bd. 34, 1892), BONIN (Bibliogr. anat., Bd. 6, 1898), v. KOCH (Zool. Anz., Bd. 1, 1878), BOVERI (Verh. phys. med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 29, 1895), HAMMAR (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), REINKE (Sitzg. Preuss. Ak. Wiss., 1895), HERTWIG (Morph. Jahrb., Bd. 4, 1878), v. KOSTANECKI (Anz. Ak. Wiss., Krakau 1895), SEELIGER (Zool. Jahrb., Bd. 6, 1892).

Echtblau R und B. Natriumsalze der Sulfosäuren verschiedener Induline, die entstehen durch Behandlung alkohollöslicher Induline mit kon-

centrirter Schwefelsäure (Berlin, Höchst, Ludwigshafen). Bronzeglänzendes Pulver, das in Wasser und Alkohol leicht löslich ist. Mit Natronlauge braune Fällung, mit Salzsäure Blaufärbung. In Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich.

Von VAN WALSEM zur Färbung des Centralnervensystems empfohlen.

Litteratur: VAN WALSEM (Verhand. Kon. Ak. Wetensch. Amsterdam, II. Sect., Deel VII, 1899).

Echtbraun. Unter diesem Namen kommen verschiedene Azofarbstoffe, theils Monazo-, theils sekundäre Disazofarbstoffe in den Handel, so entsteht das Echtbraun N (Ludwigshafen) durch Kombination von Naphtionsäure mit α-Naphtol, das Echtbraun (Elberfeld) durch Kombination von zweimal Naphtionsäure mit Resorcin, das Echtbraun ONT (Höchst) durch Kombination von zweimal Xylidinmonosulfosäure mit α-Naphtol. Es sind das alles braune, pulverförmige Körper, die in Wasser mit brauner Farbe, in Schwefelsäure mit violetter Farbe löslich sind. Durch Natronlauge färbt sich die Lösung mehr gelb oder roth. Sie färben alle Wolle in saurem Bade braun.

Echtgelb. Ein Gemenge von amidoazobenzoldisulfosaurem und -monosulfosaurem Natron; entsteht durch Einwirkung von koncentrirter Schwefelsäure auf salzsaures Amidoazobenzol (Berlin, Elberfeld). Gelbes, in Wasser lösliches Pulver, die Lösung bleibt bei Zusatz von Natronlauge unverändert, mit Salzsäure giebt sie einen rothen, in Wasser leicht löslichen Niederschlag. Färbt Wolle und Seide in saurem Bade.

Von GRIESBACH in die Mikrotechnik eingeführt und von SCHAFFER zur Knochenfärbung empfohlen. Ersterer verwendet koncentrirte wässerige Lösungen und färbt damit Alkoholmaterial. Die verschiedenen Gewebselemente färben sich in den verschiedenen Nuancen von gelb bis braun.

Litteratur: GRIESBACH (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1883), SCHAFFER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888).

Echtgrün. Unter diesem Namen gehen zwei gänzlich verschiedene Farbstoffe, einmal ein Triphenylmethanfarbstoff und ferner ein Nitrosofarbstoff, der hier als Solidgrün bezeichnet werden soll. Das Echtgrün ist das Natriumsalz der Tetramethyldibenzylpseudorosanilindisulfosäure (Elberfeld). Es ist ein blaugrünes, in Wasser und Alkohol lösliches Pulver. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure gelb, mit Natronlauge entfärbt sie sich. Färbt Wolle in saurem Bade grün.

Das, was man in der Mikrotechnik als Echtgrün bezeichnet, scheint durchweg Solidgrün zu sein.

Echtroth. Syn. Brillantroth, Cerasine, Roccelline. Monazofarbstoff, entstanden durch Kombination von α-Naphtylaminsulfosäure und β-Naphtol (Berlin, Ludwigshafen, Elberfeld). Rothbraunes, in Wasser leicht lösliches Pulver, in Schwefelsäure mit violetter Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge braun, mit Salzsäure bleibt sie unverändert. Färbt Wolle in saurem Bade.

Von GRIESBACH empfohlen.

Litteratur: GRIESBACH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886).

Echtscharlach B. Primärer Disazofarbstoff, entstanden durch Kombination von Amidoazobenzolsulfosäure und β-Naphtolsulfosäure S. (Kalle). Rothbraunes, in Wasser mit scharlachrother Farbe lösliches Pulver. In koncentrirter Schwefelsäure mit blauer Farbe löslich, beim Verdünnen

wird die Lösung roth. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge rothviolett, mit Salzsäure braun.

Ehrlich'sche Blenden siehe Blut.

Ehrlich'sches Hämatoxylin siehe Hämatoxylin.

Ehrlich-Biondi'sches Dreifarbengemisch siehe Biondisches Dreifarbengemisch.

Ehrlich'sche Triacidfärbung siehe Blut.

Eier der Coniferen siehe Coniferen.

Einbettungsmethoden siehe Celloidin und Paraffin.

Einbettung pflanzlicher Gewebe. Für die Einbettung pflanzlicher Gewebe hat sich folgendes Verfahren zur Mikrotombehandlung am besten bewährt. Die Stücke sollen möglichst klein sein, und man wird durch zweckentsprechende Operation, z. B. Aufschneiden des Fruchtknotens zum Studium der Samenanlagen, die Einbettungsmedien möglichst dicht herantreten lassen. Aus absolutem Alkohol kommen die Objekte in Mischung von $^1/_2$ absoluten Alkohol und $^1/_2$ Chloroform bis zum Untersinken, mindestens jedoch 4 Stunden, dann in reines Chloroform bis zum Untersinken, mindestens 1 Tag, sinken sie nicht, mindestens 3 Tage oder auch noch länger (siehe Characäen). Auf die nothwendige Dauer der Paraffineinbettung kann aus dem raschen oder langsamen Eindringen des Chloroforms geschlossen werden. Durchschnittlich stimmt folgende Zeitangabe: 2 Stunden in Chloroform, dem Paraffinspähne (Schmelztemperatur 45°) zugesetzt sind, dann auf dem Wärmeschrank, wo es unter Zuführung neuer Paraffinspähne 12 Stunden verbleibt, dann bleibt es offen 12 Stunden, kommt für 1—2 Tage im Wärmeschrank in reines Paraffin von 45°, schliesslich für 12 Stunden oder länger in Paraffin von 52°. Das Einbetten unter der Luftpumpe hat sich als nicht wesentliche Vortheile bringend herausgestellt.

Magnus, Berlin.

Einschlussmittel. Um Präparate unter dem Mikroskop auch mit starken Linsensystemen beobachten zu können, muss man sie in den meisten Fällen mit einem durchsichtigen Medium durchtränken und den Raum zwischen Deckglas und Objektträger mit diesem Medium ausfüllen, so dass das Objekt vollständig und allseitig in jenes Medium eingebettet erscheint. Solche Medien müssen auf jeden Fall natürlich flüssig sein, entweder von Haus aus, wie Glycerin, Wasser etc., oder sie müssen durch Lösen in passenden Solventien flüssig gemacht werden, wie die Harze, essigsaures Kali etc., oder schliesslich können sie durch Erwärmen verflüssigt werden, wie Glyceringelatine, Harze etc.

Alle Einschlussmittel müssen, soll das Präparat ein Dauerpräparat sein, konservirende Eigenschaften besitzen, also vor allem eine Fäulniss, ein Zugrundegehen des Objekts verhindern.

Eine grosse Rolle bei der Wahl des Einschlussmittels spielt der Brechungsindex desselben. Feine Strukturen werden, vor allem wenn es sich um ungefärbte Präparate handelt, umsomehr verwischt, je stärker das Brechungsvermögen des sie einschliessenden, resp. durchtränkenden Mediums ist. Man wird deshalb für solche Fälle ein Einschlussmittel von niederem oder mittlerem Index wählen (1,3—1,4). Für gefärbte Präparate ist das weniger von Bedeutung, ja es wird sogar meistens bei different gefärbten Präparaten die Definition mit dem Lichtbrechungsvermögen des Mediums zunehmen. Andererseits kann man aber auch, indem man mit dem Brechungs-

index des Einschlussmediums über den des Objektes hinausgeht, also sehr stark brechende Medien verwendet (1,7—1,9), manche allerfeinste Strukturen sichtbar machen; vor allem spielt das eine grosse Rolle in der Technik der Diatomeenuntersuchung.

Wir können die Einschlussmittel ganz allgemein in flüssige und feste eintheilen. Die ersteren bedürfen, um die Verdunstung der Mittel und die Verschiebung des Deckglases zu vermeiden, eines Abschlusses nach aussen. Das Deckglas wird rundum mittels einer festen Masse mit dem Objektträger verbunden und so der zwischenbleibende Raum nach aussen hermetisch abgeschlossen.

Im folgenden sollen die wichtigsten Einschlussmedien, zunächst die flüssigen, dann die festen, aufgeführt werden.

Destillirtes Wasser kommt als Einschlussmedium nicht in Betracht, da die in ihm aufbewahrten Präparate sehr bald dem Verderben ausgesetzt sind. Dagegen kann es vermöge seines geringen Brechungsindex (1,33) sehr gut als Beobachtungsmedium für ungefärbte und auch gefärbte dünne Schnitte dienen. Will man es als Einschlussmittel verwenden, so muss man ihm antiseptisch wirkende Mittel zusetzen, wie Chloroform, Thymol, Kampher, Karbolsäure, Chloralhydrat etc.

Zuckerlösungen können mit Vortheil für manche Objekte, auch gefärbte, Verwendung finden. Mit dem Gehalt an Zucker steigt das Lichtbrechungsvermögen (5% = 1,341, 10% = 1,347, 30% = 1,376). Noch höher ist der Brechungsexponent der Lävulose, circa 1,50. Um das Verderben der Lösungen zu verhindern, kann man Chloralhydrat zusetzen.

Kaliumacetat ist in koncentrirter wässeriger Lösung auf Empfehlung von Max Schultze als Einschlussmedium vielfach benutzt worden, besonders ist es für Osmiumpräparate empfohlen worden. Sein Brechungsexponent beträgt 1,370. Es hat die Annehmlichkeit, dass es vermöge seiner starken hygroskopischen Eigenschaften nicht eintrocknet. Gegenwärtig wird es nur noch wenig benutzt.

Glycerin ist das bei weitem am meisten verwendete flüssige Einschlussmedium. Sein Brechungsexponent beträgt bei 20° 1,456. Durch Zusatz von Wasser kann derselbe erheblich heruntergedrückt werden, so hat eine Mischung von gleichen Theilen Wasser und Glycerin nur noch einen Brechungsexponenten von 1,397. Glycerin ist ein vorzügliches Einschlussmittel, es hellt die Präparate weniger auf wie die gebräuchlichen Harze, ist nur wenig der Zersetzung durch Mikroorganismen unterworfen und verdunstet nicht. Ein sehr grosser Uebelstand aber besteht darin, dass sich nur sehr wenige Färbungen in ihm halten. Glycerinfest sind im allgemeinen Karminfärbungen, dagegen wird Hämatoxylin schon nach verhältnissmässig kurzer Zeit zerstört. Aehnlich geht es den meisten Anilinfarben. Da das koncentrirte wasserfreie Glycerin begierig Wasser den Objekten entzieht, so kommt es leicht zu Schrumpfungen, wenn man die Objekte direkt aus Wasser oder auch Alkohol in reines Glycerin überführt. Man setzt deshalb dem Wasser am besten zunächst etwas Glycerin zu und lässt vor Staub geschützt verdunsten. Die verdunstete Flüssigkeit ersetzt man dann immer durch reines Glycerin, so lange bis alles Wasser oder Alkohol verdunstet ist. Um den Brechungsindex des Einschlussmittels herabzudrücken, hat man das Glycerin mit Wasser und Alkohol verdünnt, für Seethiere auch mit Seewasser. Andererseits hat man auch das Glycerin mit Körpern von stärkerer Lichtbrechung gesättigt (Chloralhydrat, Chlorkadmium, Zinkjodat) und dadurch Einschlussmedien von höherem Brechungsindex erzielt.

Von den ätherischen Oelen haben nur wenige als Einschlussmittel Eingang gefunden, sie haben mittelhohen Brechungsindex und stehen in

dieser Beziehung über dem Glycerin, aber unter den Harzen. Lee rühmt eingedicktes Cedernöl (1,510), Böhmer und Grenacher Ricinusöl (1,481).

Die flüssigen Einschlussmittel mit sehr hohem Brechungsindex über 1,65 spielen in der thierischen Mikrotechnik eine geringe Rolle, werden dagegen in der pflanzlichen Mikrotechnik nicht selten verwendet, da sie eine bessere Ausnutzung der stärksten Immersionssysteme ermöglichen. Von diesen Medien seien erwähnt das Monobromnaphtalin (1,661), Kaliumquecksilberjodid (1,712) wird hergestellt durch Lösen von 65 Grm. Quecksilberjodid und 50 Grm. Jodkalium in 25 Grm. Wasser. Meates erwärmt 10 Grm. Brom mit 30 Grm. Schwefel bis zum Schmelzen des letzteren, fügt dann 13 Grm. pulverisirtes Arsen zu, kocht bis zur Lösung und erzielt so ein Medium vom Brechungsindex 2,4. Auch Phosphorlösungen in Schwefelkohlenstoff oder Cassiaöl ergeben einen sehr hohen Brechungsindex.

Von den festen Einschlussmitteln spielt neben den harzigen Massen die Glyceringelatine immer noch eine gewisse Rolle. Sie hat vor dem Glycerin den Vortheil, dass sie fest wird und keinen Lackrand braucht, aber den Nachtheil, dass sie nur sehr schwer wirklich klar und schlierenfrei zu bekommen ist und dass die Objekte in der Wärme mit ihr durchtränkt werden müssen. Für ihre Darstellung existiren zahllose Vorschriften. Die Hauptsache ist, dass man eine ganz auserlesene Gelatine zur Verfügung hat. Man weicht dieselbe in einem kleinen Quantum Wasser mehrere Stunden ein, lässt das etwa noch vorhandene Wasser ablaufen und erwärmt auf dem Wasserbade bis zur Verflüssigung, dann giebt man den gleichen Theilen Glycerin und irgend ein fäulnisswidriges Mittel zu, etwa 10%iges Chloralhydrat oder 5%ige Karbolsäure. Die Masse muss sorgfältig im Heisswassertrichter durch Glaswolle, feine Leinwand oder Aehnliches filtrirt werden.

Eine weit grössere Rolle als alle die erwähnten Medien spielen aber heutzutage die harzigen Einschlussmedien. Von Harzen kommen hauptsächlich in Frage der Kanadabalsam, das Damarharz, das Kolophonium und der Styrax. Von ihnen hat der erste einen Brechungsindex von 1,535, der letzte einen solchen von 1,582. Man löst die Harze gewöhnlich in Xylol, Chloroform, Benzin oder Terpentinöl, dadurch wird natürlich der Brechungsindex etwas heruntergedrückt. Sehr wichtig ist die Thatsache, dass die meisten Balsame saure Reaktion besitzen, wohl hauptsächlich durch die Anwesenheit von Ameisensäure, Bernsteinsäure und Damarylsäure. Das wird vielen gefärbten Präparaten verderblich. Man sollte deshalb den Balsam vor dem Gebrauch neutralisiren, indem man ihn längere Zeit erhitzt und etwas kohlensaures Kalium zusetzt (Fish und Colucci), dann wird heiss durch Leinwand filtrirt und nach dem Erkalten in Xylol oder Chloroform gelöst. Welches Harz man dann wählt, bleibt sich ziemlich gleich, die ausgedehnteste Anwendung findet jedenfalls der Kanadabalsam, manche ziehen allerdings das Damarharz vor. Das letztere soll nach Fol nicht in Chloroform, sondern in gleichen Theilen Benzol und Terpentinöl gelöst werden. Die Präparate müssen aus dem absoluten Alkohol zunächst mit dem betreffenden Lösungsmittel des Harzes (Intermedium) durchtränkt werden und können erst dann eingeschlossen werden.

Schliesslich wäre an dieser Stelle noch der venzianische Terpentin zu erwähnen, der in dem gleichen Volum 96%igen Alkohols gelöst von Vosseler als Einschlussmedium empfohlen wird. Sein Brechungsindex ist etwas niedriger als der des Kanadabalsams. Er hat den Vorzug, dass man das Objekt direkt aus starkem Alkohol einlegen kann, aber den grossen Nachtheil, dass er die meisten Färbungen sehr bald ausbleicht.

Litteratur: Lee (Lee und Mayer), Böhmer (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), Grenacher (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), Meates (Journ. Roy. Micr. Soc., II, Bd. 6, 1886), Vosseler (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889).

Eisen. Zum Nachweis des Eisens in den Geweben fixirt man nach MACALLUM die Objekte am besten in Alkohol. Die Schnitte oder auch kleine Gewebspartikelchen kommen unter das Deckglas in einen Tropfen Schwefelammonium, dann wird Glycerin zugesetzt und das Präparat 20 Tage im Wärmeschrank bei 60° gehalten. Die eisenhaltigen Stellen erscheinen dann grün bis schwarz. Man kann auch das Schwefelammonium mit Glycerin auswaschen und ein Gemisch von Salzsäure und frisch bereiteter Ferrocyankaliumlösung zusetzen, dann entsteht an jenen Stellen Blaufärbung. Zu bemerken ist dabei, dass die zum Anfertigen der Schnitte benutzten Messer absolut rostfrei und mit reinem absoluten Alkohol benetzt sein müssen. HALL fixirt Milz und Leber in einer Mischung von Schwefelammonium 30 und absolutem Alkohol 70, den Darm in Schwefelammonium 5, absoluten Alkohol 70, Wasser 25. Die Objekte werden in gewöhnlicher Weise in Paraffin eingebettet und mikrotomirt. Die Schnitte kann man entweder noch einmal mit Schwefelammonium behandeln oder gleich in eine 1,5%ige Lösung von Ferrocyankalium mit 0.5% Salzsäure für 20 Minuten bringen, abspülen, Alkohol, Xylol, Balsam. Durch die Fixation in dem schwefelammoniumhaltigen Alkohol wird das Eisen in den Geweben unlöslich gemacht, während es durch reinen Alkohol in erheblichem Grade ausgezogen wird. Auch QUINCKE fixirt nur in Alkohol. Fixation in Bichromat erschwert die Reaktion sehr. Man soll kein frisch bereitetes, aber auch kein zu altes Schwefelammonium verwenden, es muss bereits gelb sein. Man lege die Schnitte entweder in reines oder in zehnfach verdünntes Schwefelammonium einige Minuten bis zu einer Stunde, spüle ganz flüchtig in Wasser ab und übertrage in Glycerin. Erst nach $^1/_2$ bis einer Stunde treten die Details hervor, nach 24 Stunden sind die Präparate unbrauchbar. Man darf in der schwefelammoniumhaltigen Flüssigkeit nur mit Glas- oder Platininstrumenten arbeiten. Das Ferrocyankalium hat vor dem Schwefelammonium als Reagens den Vorzug, dass die Präparate haltbar sind und auch eventuell nachgefärbt werden können, am besten mit Alaunkarmin, an Feinheit steht es aber dem vorigen nach und kann zu groben Täuschungen führen. Man fixirt auch hierbei am besten in Alkohol und bringe die Schnitte in eine Lösung von Ferrocyankalium, der man vor dem Gebrauch $^1/_2$—1% Salzsäure zusetzt, für einige Minuten bis höchstens $^1/_4$ Stunde, auswaschen in angesäuertem Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam. LIST fixirt in Sublimat, bringt auf die Schnitte 2 Tropfen einer 1,5%igen Lösung von Ferrocyankalium für 5 Minuten, dann abgiessen und 2 Tropfen 1%iger Salzsäure zufügen, kurz auswaschen und nachfärben in Karmin.

Litteratur: MACALLUM (Proc. Roy. Soc. London, Bd. 50, 1892), HALL (Arch. Phys., 1896), QUINCKE (Arch. exper. Path., Bd. 37, 1896), LIST (Mitth. zool. St. Neapel, Bd. 12, 1896).

Eisen in pflanzlichen Geweben. Die Schnitte müssen mit Silber- oder Platinmesser angefertigt sein. Zum Nachweis der Eisenoxydverbindung wird eine weingeistige Lösung von Rhodankalium benutzt. Tritt sofort eine Röthung ein, ist eine lösliche, erst nach Zusatz von Salzsäure, eine unlösliche Verbindung anzunehmen. In gleicher Weise wird auf Eisenoxydulverbindung durch Rothfärbung mit Rhodankalium und Chloroform oder Salpetersäure geschlossen. Auch 20%iges Ferro- und Ferricyankalium, die mit etwas Salzsäure versetzt werden, zeigen durch Berlinerblaubildung Eisenoxyd oder Oxydul an, eventuell erst nach Behandlung der Gewebe mit (eisenfreier) Kalilauge (s. auch Eisennachweis in Kernchemie).

Litteratur: MOBLISCH (Ber. deutsche bot. Ges., Bd. 11, 1893). *Magnus*, Berlin.

Eisensalze. Allgemeines. Das Eisen geht als zwei-, als drei- und als sechswerthiges Metall eine Reihe von Verbindungen ein. Von diesen haben die beiden ersten Gruppen grössere Wichtigkeit. Als zweiwerthiges

Metall bildet es die Eisenoxydul- oder Ferroverbindungen, die Verbindungen des Eisens, in denen es dreiwerthig auftritt, heissen Eisenoxyd- oder Ferriverbindungen, die Verbindungen der dritten Reihe Eisensäureverbindungen. Es ist noch zu bemerken, dass bei den Ferrisalzen oft statt eines dreiwerthigen Eisenatoms ein Doppelatom, das also sechswerthig ist, angenommen wird, z. B. beim Eisenchlorid, $Fe_2 Cl_6$.

Es giebt eine Reihe charakteristischer Reaktionen, sowohl auf die Ferro- wie auf die Ferrisalze, durch die ihre Unterscheidung leicht möglich ist. So zeigen die Lösungen der Ferrosalze folgendes Verhalten:

1 Ammoniak, Kali- und Natronlauge rufen einen weissen, durch Oxydation alsbald grün, dann braun werdenden Niederschlag hervor, der zuerst Ferrohydroxyd, $Fe(OH)_2$, dann Ferrihydroxyd, $Fe_2(OH)_6$ ist.

2. Schwefelwasserstoff ruft keine Fällung hervor.

3. Schwefelammonium bewirkt einen schwarzen Niederschlag von Eisensulfid, $Fe S$.

4. Die Karbonate geben einen schmutzig-weissen Niederschlag von Ferrokarbonat, $Fe CO_3$.

5. Ferrocyankalium erzeugt einen bläulich-weissen Niederschlag, der an der Luft schnell blau wird.

6. Ferricyankalium erzeugt einen dunkelblauen Niederschlag (Turnbull's Blue).

Dagegen verhalten sich Ferrisalze folgendermassen:

1. Ammoniak, Kali- und Natronlauge rufen sofort einen braunen Niederschlag von $Fe_2(OH)_6$ hervor.

2. Schwefelwasserstoff lässt Schwefel (weissliche Trübung) ausscheiden.

3. Schwefelammonium verhält sich wie bei den Ferrosalzen.

4. Die Karbonate geben einen braunen Niederschlag von $Fe_2(OH)_6$.

5. Ferrocyankalium erzeugt einen dunkelblauen Niederschlag von Berliner Blau.

6. Ferricyankalium färbt braun, ohne dass eine Fällung erfolgt.

7. Rhodankalium bewirkt eine tiefrothe Färbung bei Gegenwart von freier Salzsäure; diese Färbung ist sehr charakteristisch und schon bei den kleinsten Mengen eines Ferrisalzes nachzuweisen. Beim Ausschütteln mit Aether färbt sich dieser stark roth.

Ferro- und Ferriverbindungen gehen leicht in einander über. Durch Oxydationsmittel werden die ersteren in die letzteren übergeführt; durch Reduktionsmittel findet das Umgekehrte statt. *Mosse*, Berlin.

Die Eisensalze besitzen in der technischen Färberei eine ausserordentliche Bedeutung als Beizen, und zwar werden hauptsächlich verwandt Ferrosulfat, Ferrisulfat, Ferriacetat und die sogenannte Schwarzbeize, die erhalten wird durch Sättigen von rohem Holzessig mit Eisendrehspänen. Von denjenigen Farbkörpern, welche mit Eisensalzen gefärbte Lacke liefern, ist in erster Linie das Blauholz zu nennen. Es liefert mit Eisensalzen sehr haltbare Schwarzfärbungen, vor allem für Baumwolle und Seide. Das Eisen wird auf der Faser zunächst entweder in der Form des Eisenoxyds oder des gerbsauren Eisens fixirt, indem man die Faser entweder zuerst mit einem Eisensalz und dann mit Kalkmilch oder zuerst mit einem Gerbstoff (Sumach, Galläpfel etc.) und dann mit dem Eisensalz behandelt. Dann folgt in beiden Fällen die Färbung in einer frisch bereiteten Blauholzabkochung. Rothholz liefert mit Eisensalzen violette, Gelbholz olivfarbene Töne. Von den Anilinfarbstoffen ist es besonders das zu den Phthaleïnen gehörige Galleïn und Coeruleïn, welche mit Eisensalzen gebeizt werden.

In der Mikrotechnik werden von den Eisensalzen als Beizen hauptsächlich verwandt der Eisenalaun, das Eisenchlorid, Eisensulfat und Eisentartrat.

Eisenacetat, Ferriacetat, basisches Eisenoxydacetat, $Fe_2 \begin{cases}(OH)_2 \\ (O.C_2H_3O)_4\end{cases}$ entsteht beim Lösen von Eisenhydroxyd in Essigsäure und stellt eine rothe amorphe Masse dar, die in Wasser und Alkohol sehr leicht löslich ist. Neutrales Eisenacetat, $(C_2H_3O_2)_6F_2$, ist in reinem Zustand nur sehr unbeständig, es bildet eine syrupöse, schwarze Masse. Eine 17,05%ige wässerige Lösung von basischem Eisenacetat ist officinell unter dem Namen Liquor ferri acetici. Es ist eine dunkelrothe Flüssigkeit, die sich unter der Einwirkung von Luft und Licht leicht zersetzt und ein specifisches Gewicht von 1,09 besitzt. Die Tinctura ferri acetici Rademacheri enthält neben neutralem Eisenacetat noch Eisensulfat und Alkohol.

Eisenalaun siehe Alaune.

Eisenalizarin siehe Neurogliamethode von Benda.

Eisenammoniumchlorid, Eisensalmiak, Ferrum ammoniochloratum, wird nach der Pharmakopoe durch Eindampfen eines Gemisches von Chlorammonium und Eisenchloridlösung erhalten. Es bildet ein gelbes, hygroskopisches Pulver.

Von Lavdowsky ist es in dünner Lösung als indifferentes Zusatzmittel für Methylenblaulösungen benutzt worden.

Litteratur: Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1895).

Eisenchlorid, Eisenperchlorid, Ferrichlorid, Ferrum sesquichloratum: F_2Cl_6, ist eine gelbbraune, an der Luft zerfliessende, leicht in Wasser, Alkohol, Aether lösliche Krystallmasse. Der Liquor ferri sesquichlorati des Arzneibuches für das Deutsche Reich ist eine 29%ige Lösung von Eisenchlorid in Wasser, enthält 10 Theile Eisen und soll in dunklen Flaschen aufbewahrt werden. Das Eisenchlorid wurde zuerst von Fol in Form der Tct. ferri perchlorati (einer 26%igen Eisenchloridlösung in Alkohol) der britischen Pharmokopoe, mit Wasser zu einer 2%igen Lösung verdünnt, empfohlen. Später verdünnte Fol diese Tct. ferri perchlorati mit dem 5- bis 10fachen Volumen 70%igen Alkohols. Den in dieser Lösung mit der Zeit sich bildenden Niederschlag löst man durch Ansäuern mit einigen Tropfen Salzsäure und kräftiges Umschütteln auf. Die Nachbehandlung besteht in Auswaschen in neutralem, dann saurem oder gleich mit saurem Alkohol; von 50% mit ½—1 Procent Gehalt an Oxalsäure; dann Behandlung mit neutralem Alkohol.

Nach Fol ist das Eisenchlorid zur »naturgetreuen Erstarrung von Wimper- und Pseudopodienbildungen ein bisher unübertroffenes Fixirungsmittel«. Auch für kleine pelagische Organismen leiste diese Methode Vorzügliches.

Auch für manche botanischen Zwecke ist das Eisenchlorid empfohlen worden: so von Pfeiffer v. Wellheim für Süsswasseralgen. Das Eisenchlorid dringt nur langsam ins Gewebe ein, also sind nur kleine Stücke zu fixiren.

Die Ferrisalze — unter diesen als bequemstes das Eisenchlorid — bieten leicht die Möglichkeit, Färbungen im Gewebe selbst durch Nachbehandlung der mit ihnen fixirten Stücke oder Schnitte entstehen zu lassen. Schon 1866 hat Polaillon die schwarze Reaktion der Eisensalze mit Tannin, Gerbsäure, Pyrogallussäure zu Färbungszwecken an peripherischen Ganglien benützt, besonders zur Unterscheidung des ungefärbt hervortretenden Bindegewebes. Fol setzte dem Entwässerungsalkohol eine Spur Gallussäure zu, um den Bau der mit Eisenchlorid fixirten Objekte besser hervortreten zu lassen. Krause färbte die Kerne der Retina durch Fixation

mit 1%igem Ferrichlorid und Nachbehandlung mit einer 2%igen Gerb- oder Pyrogallussäurelösung. — Die Blaufärbung mittels der Berliner Blaureaktion ist ebenfalls schon lange benutzt worden von Leber zur Darstellung des Saftlücken- und Saftkanälchensystems der Cornea (siehe Sehorgan). List hat sich neuerdings dieser Färbemethode zur Schleimdarstellung bedient. Er bringt Schnitte auf eine halbe Stunde in Eisenchloridlösung, die mit Salzsäure angesäuert ist, und bläut sie mit Ferrocyankalium. — Neueren Datums ist die von Platner angegebene Fixation von Nervenfasern zur Darstellung des Neurokeratingerüstes mit Liquor ferri sesquichlorati 1, Aq. dest. oder Spirit. rectif. 3—4 mehrere Tage lang; Auswaschen in Wasser oder Alkohol, bis Rhodankaliumlösung keine Rothfärbung der Flüssigkeit mehr giebt. Färbung mit Solidgrün. — Ueber die ebenfalls hierhergehörige Kernschwarzfärbung nach Platner siehe Kernschwarz. Eisenchlorid mit Osmiumtetroxyd siehe Osmiumtetroxyd. — Eisenchlorid mit Chromsäure siehe Chromsäure.

Litteratur: Fol (Zeit. wiss. Zool., Bd. 38, 1883 und Lehrbuch, pag. 102), Pfeiffer v. Wellheim (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), Polaillon (Journ. de l'Anat. Phys., 3. Jahrg., 1866), Krause (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, 1884), Leber (Arch. Ophth., Bd. 14, 1868), List (Mit. zool. St. Neapel, Bd. 12, 1896), Platner (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1887).

Poll, Berlin.

Eisenhämatoxylin siehe Hämatoxylin-Eisen.

Eisenkarminat siehe Karminsäure.

Eisenoxyd-Ammoniumcitrat, Ferrum citricum ammoniatum, Ferri-Ammoniumcitrat, $(C_6 H_5 O_7) Fe_2 + C_6 H_6 (NH_4)_3 O_7$, entsteht, wenn man eine Lösung von Ferricitrat in Citronensäure mit Ammoniak neutralisirt, eindampft zur Syrupkonsistenz und trocknen lässt. Gelbbraune, amorphe, hygroskopische Masse, die in Wasser und Alkohol leicht löslich ist.

Ueber seine Anwendung in der Karminfärbung vergl. Karminsäure.

Eisensulfat, Ferrosulfat, Eisenvitriol, Ferrum sulfuricum purum, $Fe SO_4 + 7 H_2 O$, bildet grosse, blaugrüne, monokline Krystalle, die leicht verwittern unter Bildung wasserärmeren Salzes. Bei 15° lösen sich ca. 70% in Wasser, in Alkohol und Aether ist es unlöslich. Bis auf 300° erhitzt verliert das Eisensulfat sein Krystallwasser und bildet ein weisses Pulver, das aus der Luft oder anderen wasserhaltigen Flüssigkeiten begierig Wasser aufnimmt. Bei Gegenwart von Sauerstoff bildet sich dabei gleichzeitig basisches Eisenoxydsulfat. Frisch bereitete Eisensulfatlösung reagirt fast neutral, beim Stehen an der Luft tritt jedoch mit der Zeit immer stärker saure Reaktion auf durch Bildung freier Schwefelsäure. Das Ferrum sulfuricum siccum der Pharmakopoe enthält noch ein Molekül Krystallwasser.

Das Eisensulfat wird in ausgedehntem Masse in der Färberei als Beize gebraucht. Man hat davon auch in der Mikrotechnik, aber nur sehr beschränkten Gebrauch gemacht, z. B. für Hämatoxylin, doch tritt es hier hinter den Eisenalaun weit zurück. Auch als Beize für Anilinfarbstoffe, Methylviolett, Fuchsin etc. kann es in Verbindung mit Tannin benutzt werden. Delage fixirt Turbellarien mit einer koncentrirten wässerigen Lösung und Thiem isolirt Muskelfibrillen in einer 3—5%igen Lösung von Eisensulfat. Ueber die Anwendung des wasserfreien Salzes zum Entwässern von Alkohol siehe Alkohol, zur Darstellung von Berlinerblau siehe Injektion und Sehorgan (Hornhaut).

Litteratur: Delage (Arch. Zool. expér., [2], Bd. 4, 1886), Thiem (Inaug.-Diss. Greifswald 1876).

Eisentartrat, $(C_4 H_4 O_6)_3 Fe_2$, entsteht durch Lösung von frisch gefälltem Eisenhydroxyd in Weinsäure. Gelbliches, leicht in Wasser lösliches Pulver, das sich bei 50° unter Entwicklung von Kohlensäure zersetzt.

Das Eisentartrat kann ebenso wie alle anderen Eisensalze zur Beizung von Hämatoxylinpräparaten dienen. So benutzt es Francotte bei der Eisenhämatoxylinmethode an Stelle des Eisenalauns, zum Differenziren nimmt er aber den letzteren.

Litteratur: Francotte (Arch. Zool. expér., [3], Bd. 6, 1898).

Eisessig siehe Essigsäure.

Eiweiss. Das Eieralbumin wird als schwach opalescirende, alkalisch reagirende, klare Flüssigkeit erhalten, wenn man frisches Hühnereiweiss durch feine Siebe oder Leinwand colirt. Es gerinnt bei 75°, ist in Wasser löslich und koagulirt durch Zusatz von Alkohol oder Aether zu einer festen, gut schneidbaren Masse. Durch organische Säuren wird es nicht aus seiner wässerigen Lösung gefällt, wohl aber durch Metaphosphorsäure, überschüssige Salzsäure, Salpetersäure, Kalilauge und Metallsalze.

In der Technik findet das Eiweiss vielfach Anwendung zum Klären und zum Befestigen unlöslicher Farben auf der Faser.

Der Eigenschaft, durch Hitze oder Behandlung mit Alkohol zu koaguliren, verdankt das Eiweiss seine Verwendung in der histologischen Technik als Einbettungs- (siehe Paraffineinbettung), als Aufklebe- (siehe Aufkleben und Celloidin) und Injektionsmasse. Auch als indifferentes Lösungsmittel für Farbstoffe bei der vitalen Injektion findet es hier und da Verwendung.

Eiweissglycerin siehe Aufkleben und Celloidin.

Eiweisskrystalloide siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Eiweissschläuche siehe Enzyme.

Eiweissstoffe der Pflanzenzelle. Proteïnstoffe mannigfacher Natur kommen unorganisirt, als konkrete Ablagerungen in amorphen Körnern oder Krystalloiden oder gelöst im Zellsaft weit verbreitet in Pflanzenzellen vor, wie sie Hauptbestaudtheile des organisirten Cytoplasmas, Zellkerns, Chromatophoren u. s. w. bilden. — Eine specielle, ausschliesslich ihnen zukommende mikrochemische Reaktion giebt es bekanntlich nicht, doch existiren in der botanischen Mikrotechnik eine Reihe für gewöhnlich ausreichender, scharfer Farbenreaktionen. Falls der Nachweis der Eiweissstoffe exakt geführt werden soll und es auf strukturelle Feinheiten nicht ankommt (siehe unten), müssen die Schnitte vorher mit absolutem Alkohol behandelt werden, um einerseits etwa gelöstes Eiweiss zu fällen, andererseits Harze, Gerbstoffe, ätherische, manchmal auch fette Oele, Phloroglucin, Farbstoffe, Alkaloide zu entfernen, letztere unter Zusatz krystallisirter Weinsäure 1 : 20 (siehe Alkaloide). Fette Oele und Harze sind durch Chloroform zu entfernen, durch Alkohol gefällte Diastase, Gummiarten, Pektinstoffe, Kohlenhydrate. organische Säuren u. s. w. durch Kochen in Wasser (Strasburger, Gr. Practicum, pag. 100). Für gewöhnliche Zwecke, besonders bei zur Demonstration geeigneten Objekten, sind aber alle diese Vorbehandlungen unnöthig. So treten sehr schön alle folgenden Reaktionen bei einem im Wasser ausgebreiteten Körnchen käuflicher Presshefe auf. Diese Reaktionen sind: 1. Jod, Jodlösung, Jodglycerin und Jodjodkalium (nicht zu verdünnt) färbt gelb bis gelbbraun. Der thierische Eiweissstoff: Virchow'sches Amyloid, giebt eine röthlich violette bis blaue Farbe. 2. Millon'sches Reagens (Gemisch Quecksilberoxyd und Oxydulnitrat und salpetrige Säure) dargestellt: 1 Gewichtstheil Hg + 2 Gewichtstheile HNO_3, spec. Gewicht 1,42, oder 1 Ccm. Hg + 9 Ccm. HNO_3, spec. Gewicht 1,52, hält sich nicht lange, ist aber durch einige Tropfen Kaliumnitrit zu regeneriren. Reaktion oft erst bei schwacher Erwärmung (nicht Kochen) rosenroth bis ziegelroth. (Gleiche

Reaktion giebt auch unter Umständen Gummi und Stärkemehl. Bei Eiweissanwesenheit?) Es ist die allgemeine Reaktion auf Phenol und seine Derivate, ebenso auf Tyrosin (siehe Pflanzliche Zellmembranen, pag. 9). 3. Gewöhnliche koncentrirte Salpetersäure färbt gelb (Xanthoproteïnreaktion), verstärkt durch Kali und Ammonsalze (ebenso einige ätherische Oele, Harze und Alkaloide wie allgemein Verbindungen der aromatischen Reihe). 4. Rohrzucker und koncentrirte Schwefelsäure (RASPAIL'sche Reaktion) Rothfärbung, aber noch bei vielen anderen organischen Stoffen (z. B. Oelen). Hier unwichtiger: 5. *a)* Kupfersulfat, *b)* koncentrirte Kalilauge (Biuretreaktion) violett. 6. Phosphormolybdänsäure gelb. 7. Pikrinsäure gelb und andere, letztere beiden auch für Alkaloide (siehe Alkaloide, NICKEL, DE WÈVRE).

Als identische Eiweissfärbung gilt Eosin (siehe auch unten). Färbung etwa eine Stunde in sehr verdünnter Lösung und Differenzirung in Glycerin. Charakteristisch ist auch die Färbung mit gelbem Blutlaugensalz und Eisenchlorid: 1 Stunde lang in frisch bereitetem Gemisch von 1 Theil 10%iger wässeriger Lösung von gelbem Blutlaugensalz, 1 Theil Wasser, 1 Theil Essigsäure, spec. Gewicht 1,063. Auswaschen in 60%igem Alkohol, so lange derselbe noch sauer reagirt. In verdünnter Eisenchloridlösung färben sich jetzt die Eiweissstoffe, die durch das Salz gefällt wurden, blau (Berliner Blau), (ZACHARIAS). Die Eiweissstoffe (Plasma) sind löslich in JAVELLE'scher Lauge und verdünnter Kalilauge (auch zur Durchsichtigmachung der Schnitte, siehe Aufhellung pflanzlicher Gewebe). Durch gewisse Fermente, Pepsin und Pankreatin (siehe Enzyme), werden Proteïnstoffe in leichtlösliche Verbindungen (Peptone u. s. w.) übergeführt. Frisches oder besser 24 Stunden in Alkohol gehärtetes Material wird zur Pepsin-, resp. Pankreatinverdauung zweckmässig in einem Gemisch von 1 Theil Pepsin, resp. Pankreatinglycerin, 3 Theilen Wasser, 1 Theil 0,2%iger Salzsäure bei 40° behandelt. Die Methode ist von Wichtigkeit für die Unterscheidung phosphorfreier und phosphorhaltiger Eiweissstoffe (Nukleïne) und damit zur morphologischen Unterscheidung der einzelnen Kernelemente (Näheres siehe Zellchemie) oder auch zur Entfernung undurchsichtiger Eiweissmassen. So werden leichtlösliche Aleuronkörner durch 0,3%ige Salzsäure, schwerlösliche durch Einwirkung einer schwach angesäuerten Lösung von Pepsinpankreatinglycerin (1 Theil Pepsinglycerin, 1 Theil Pankreatinglycerin, 20 Theile 0,3%ige Salzsäure), beides von Dr. GRÜBLER, Leipzig, entfernt. (STRASBURGER.)

Als amorphe Körner sind die Proteïnkörper als Aleuronkörner in Samen (z. B. zur Demonstration: in der Erbse, in der Kleberschicht des Weizens) weit verbreitet. Da sie theilweise in Wasser löslich, müssen sie in Glycerin untersucht oder vorher fixirt werden, am besten in Sublimat oder koncentrirtem Pikrinsäurealkohol. Als Färbung ist allgemein Boraxkarmin oder Eosin zu empfehlen. (Ueber »Globoïdeninhalt vergl. Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.) In diesen amorphen Eiweissmassen, aber auch sonst frei im Cytoplasma, im Zellsaft, im Zellkern, in Chromatophoren und Pyrenoiden tritt das Reserveeiweiss häufig in krystallartigen, von regelmässigen Flächen begrenzten Gebilden: Eiweisskrystalloiden auf, die dem regulären hexagonalen System anzugehören scheinen (SCHIMPER, SCHULZE).

Als sicherstes Fixirungsmittel hat sich Sublimatalkohol bewährt; in difficileren Fällen ist jedenfalls ein Säuregemisch nicht verwendbar, wie überhaupt, um eine schnelle Desorganisation zu vermeiden, die Präparationen meist einige Vorsicht erfordern, respektive möglichst leicht durchtränkbare Stücke (eventuell nach Ablösung der Oberhaut) zu verwenden sind. Zur Färbung dient Säurefuchsin: die gut ausgewaschenen Schnitte werden in 0,2%iger Säurefuchsinlösung (durch etwas Kampher haltbar gemacht) circa 24 Stunden gefärbt und in fliessendem Wasser bis zur Entfärbung der übrigen Zellbestandtheile (½ bis 24 Stunden) ausgewaschen. Zur Unterscheidung von Nukleolen dient eine Vorfärbung mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin, das das Kerngerüst und die Nukleolen violett im Gegensatz zu den rothen Krystallen hervortreten lässt (ZIMMERMANN). Zur Demonstration geeignet: Ricinussamen und Samen von Bertholetia excelsa (Paranuss), in denen bei dünnen Freihand-

schnitten die grossen Krystalle bei Zusatz von absolutem Alkohol sehr scharf hervortreten. Um bei Riciunspräparaten die Formen noch schärfer sichtbar zu machen, respektive die Präparate in Glycerin zu konserviren, wird zunächst mit absolutem Alkohol gehärtet und entfettet, 10 Minuten in verdünnter wässeriger Tanninlösung gebeizt und in 2%ige Osmiumsäure übertragen (Overton). Für Konservirung der Präparate in Kanadabalsam werden die Alkoholschnitte 1 Stunde lang in 25%iger wässeriger Tanninlösung gebeizt, ausgewaschen und 1 Stunde mit 10—20%iger Eisenvitriollösung behandelt; die Krystalle sind jetzt tiefblau; dann auswaschen in Wasser, übertragen in Alkohol, Nelkenöl, Balsam (Paulsen). Frei im Zellsaft liegen grosse wohlausgebildete Krystalle in den subepidermalen Schichten gelagerter Kartoffeln, jedoch immer nur in einzelnen Exemplaren, sehr reichlich. Demonstrationsobjekt. Im Zellkern sind die Krystalloide sehr verbreitet und leicht mit Nukleolen zu verwechseln. (Unterscheidungsfärbung siehe oben. Zimmermann, Heinricher.)

Als im Gegensatz zu nicht organisirtem todtem nur dem lebenden organisirten Eiweiss zukommende Reaktion ist die mit alkalischer Silberlösung angegeben worden: entweder *A.:* 13 Ccm. Kalilauge, spec. Gewicht 1,33 ($33\frac{1}{2}$%), und 10 Ccm. Ammoniumliquor, spec. Gewicht 0,96 (9% NH_3), gemischt und auf 100 Ccm. verdünnt; 1 Ccm. hiervon unmittelbar vor Gebrauch mit 1 Ccm. 1%iger Silbernitratlösung mischen und auf 1 Liter verdünnen. Oder *B.:* 1 Liter $\frac{1}{1000}$%iger Silbernitrat- und 5—10 Ccm. gesättigter Kalklösung. Die mit diesen Reagentien behandelten Schnitte werden in die Sonne gelegt, und tritt durch Silberreduktion nach 5 Stunden Schwärzung ein, während dies in der todten Zelle nicht der Fall ist, auch geeignetes Demonstrationsobjekt. (Löw und Bokorny in zahlreichen Schriften, letzte: Flora, 1895, pag. 68.) Wird auch im Gegensatz zu Löw und Bokorny, die gemeint hatten, dass die Aldehydgruppen im lebenden Eiweiss die Reaktion bewirken und dass sie beim Absterben zugrunde gehen, gezeigt, dass beim Absterben nur die reducirenden Stoffe exosmiren, andererseits sich auch ausserhalb der lebenden Zelle die gleiche Reaktion erzielen lässt (Pfeffer, Pflanzenphysiologie, II. Aufl., Bd. I, 58 f., 1897, dort auch Litteratur), haben dennoch diese Methoden gewissen heuristischen Werth. — Unter Umständen kann Farbstoffspeicherung todte Eiweisskörper im Gegensatz zu lebenden anzeigen: In den Staubfadenhaaren von Tradescantia virginica nimmt der etwa mit Alkohol getödtete, sonst farblose Plasmaleib aus dem violetten Zellsaft die Farbe auf. Siehe auch Plasmolyse, Lebendfärbung.

Litteratur: Strassburger (Bot. Pract., 3. Aufl., 1897, vergleiche auch Kernchemie), Zacharias (Bot. Zeit., 1883), Nickel (Farbenreaktionen der Kohlenstoffverbindungen, Berlin 1890), de Wèvre (Bull. Soc. Belg. Mikr., Bd. 20, 1894), Schimper (Zeit. Krystall., Bd. 5, 1881), Schulze (Die Krystallisation von Eiweissstoffen und ihre Bedeutung für die Eiweisschemie, Jena, 1901), Zimmermann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), Overton (Bot. Centr., Bd. 44, 1890), Paulsen (Rev. gén. Bot., Bd. 2, 1890), Zimmermann (Morphologie und Physiologie des Zellkerns, Jena 1896), Heinricher (Jahrb. wiss. Bot., Bd 35, 1900).

Magnus, Berlin.

Elaioplasten siehe Oele, pflanzliche und Chromatophoren.

Elastin. Alle für das elastische Gewebe als elektiv angegebenen Färbemethoden lassen sich in Bezug auf gewisse gemeinschaftliche Principien, die diesen Methoden zugrunde liegen, in einige Gruppen eintheilen.

Die erste Gruppe umfasst die Methoden, bei welchen der Nachweis des elastischen Netzes durch die Behandlung, beziehungsweise Aufquellung des kollagenen Gewebes geschieht; die bei dieser Behandlung relativ unverändert bleibenden elastischen Fasern heben sich dann als scharf konturirte Fäden von dem verwaschenen Hintergrunde ab. Die bei einigen von diesen Methoden gebrauchten Färbungen dienen nur als minderwerthige Hilfsmittel, deshalb kann man diese Methoden Macerations-Methoden nennen.

Ebner (1875) hat die elastischen Fasern im Knochen ausser durch kurz dauerndes Kochen in Natronlauge oder tagelanges Kochen in Wasser auch auf folgende Weise sichtbar gemacht: Knochenschnitte werden durch 24—48 Stunden in eine sehr verdünnte Fuchsinlösung gebracht, in welcher sich nur die elastischen Fasern intensiv roth färben.

Renault (1875) bediente sich folgender Methoden: 1. Die in Alkohol gehärteten und in Pikrinsäure entkalkten Knochen werden in Gummi eingebettet und geschnitten. Die Schnitte werden mit Pikrokarmin (Ranvier) gefärbt und in Karminglycerin eingeschlossen. Die elastischen Fasern erscheinen ambragelb gefärbt. 2. Von entkalkten Knochen werden Lamellen mit Pincetten abgezogen und entweder nach Färbung mit Purpurin (24 Stunden) oder direkt in Wasser oder einem Tropfen Pikrokarmin zerzupft.

Schäfer (1878) bediente sich zur Färbung der elastischen Fasern in den entkalkten Knochen des Magentarothes.

Die Balzer'sche Methode (1882) beruht darauf, dass die Schnitte auf dem Objektträger in alkoholischer Eosinlösung überfärbt, dann mit 40%iger Kalilauge gewaschen und in dieselbe Lösung eingebettet werden.

Kölliker (1886) empfiehlt zum Nachweis der elastischen Fasern im Knochen die Behandlung der Schnitte mit Essigsäure, Oxalsäure und Salzsäure, Zerstörung der Schnitte durch koncentrirte Kali- und Natronlauge in der Kälte, endlich Färbung derselben mit Fuchsin oder mit Safranin.

Kuskow (1887) hat bei der Untersuchung des Ligamentum Nuchae folgende Methode angewendet: Dünne Schnitte aus dem in 85%igem Alkohol gehärteten Ligamentum werden in Wasser übertragen und von hier in eine frisch bereitete Lösung von Pepsin in 30%ige Oxalsäure (0,1 Theil Pepsin in 20 Theile Oxalsäure) gebracht, wo die Schnitte bei gewöhnlicher Temperatur 10—40 Minuten bleiben sollen. Aus der Pepsinlösung kommen die Schnitte zum Auswaschen in Wasser; hierauf werden sie in einer schwachen Lösung Ammoniakkarmin gefärbt. Nach Behandlung mit schwacher Essigsäure und Ausspülung im Wasser werden die Schnitte in Glycerin untersucht. Um die elastischen Fasern besser zu differenziren, werden die Schnitte nach der letzterwähnten Behandlung auf 1—3 Stunden noch in eine koncentrirte Lösung von Pikrinsäure gebracht.

Dührssen A. (1892) hat bei dem Nachweise der elastischen Fasern in der Portio vagin. uteri nachfolgende Methode benützt: Die in Alkohol oder Müller'scher Lösung gehärteten Schnitte legte er auf 48 Stunden in 2%ige Kalilauge, spülte sie in Wasser und färbte dieselben 24 Stunden in Anilinessigsäure, spülte sie dann wiederum in Wasser ab und konservirte sie in 50%iger Kali aceticum-Lösung. Da aber die Struktur des Gewebes Schaden litt, so kehrte er zu anderen Methoden zurück.

Sappey Ph. (1894) bringt ein Stückchen subkutanen Bindegewebes oder einer Arterie in eine Mischung von 9 Theilen Schwefelsäure (1:5) und 1 Theil Essigsäure. Nach 30 Stunden verdünne man die Mischung und koche 2 Minuten, dann wieder Beobachtung in einer Mischung von 3 Theilen Glycerin und 1 Theil Essigsäure (1:100).

Alle diese Methoden haben den grossen Nachtheil, dass durch die Quellung und theilweise Zerstörung, respektive Verdauung des kollagenen Gewebes die ursprüngliche Lagerung des um jenes herum geschlungenen elastischen Fasernetzes vollständig verändert und verschoben wird.

Die zweite Gruppe charakterisirt Unna in folgenden Worten: »Es ist eine eigenthümliche Erscheinung, dass ein Niederschlag eines Anilinfarbstoffes nur dort fixirt wird (der Entfärbung gegenüber), wo vorher ein genügender Niederschlag von metallischem Osmium stattgefunden hat.« Deshalb kann man diese Methoden Imprägnations-Methoden nennen, denn man macht die elastischen Fasern durch eine Art Imprägnation sichtbar und die Natur des Farbstoffes hat nur eine viel geringere Bedeutung.

1. Unna'sche Dahlia-Methode (1886). Die in Flemming'scher Lösung gehärteten Schnitte kommen auf eine Nacht oder 24 Stunden in ein gut zugedecktes Schälchen in folgende Lösung, welche man vorräthig halten kann: Dahlia 0,2, Aq. dest., Spirit. (95%) aa. 10,0. M. Solve, adde Ac. nitric. 2,0, Aq. dest. 18,0, Spir. vin. (95%) 10,0 — sodann, wenn die Schnitte stark blauschwarz überfärbt sind, giebt man sie zur Entfärbung in Eisessig, — wenn sie dagegen in verdünnter Lösung nur mässig gefärbt waren, in mit Eisessig eingesäuertes Wasser. Wenn sie nach kurzer Zeit den grössten Theil der blauen Farbe abgegeben haben, so spült man sie in Wasser ab, untersucht bei schwacher Vergrösserung, ob die Entfärbung bereits genügend ist, und bringt sie eventuell noch einmal in eingesäuertes Wasser. Die elastischen Fasern sind schwärzlich-blau gefärbt.

Hansen hat bei dieser Methode Alaunkarmin zur Vor- oder Nachfärbung (12 bis 24 Stunden) gebraucht.

2. Lustgarten (1886) färbte die elastischen Fasern mit Viktoriablau in folgender Lösung: 1 Theil koncentrirter alkoholischer Lösung von Viktoria-

blau, 4 Theile destillirten Wassers. Die in FLEMMING'scher Lösung gehärteten Schnitte werden 24 Stunden in dieser Lösung gehalten und hernach in Alkohol ausgespült. Die elastischen Fasern treten deutlich grünlichblau gefärbt aus den umgebenden Geweben hervor, welche nur schwach grünlich angedeutet sind.

3. MARTINOTTI (1887) gebraucht zur Färbung des elastischen Netzes eine Safraninlösung (5 : 100 Alkohol), zu welcher er nach einigen Tagen 200 Grm. destillirten Wassers zugiebt, — und legt erst dann in dieselbe die Schnitte (aus Flemming) auf 24 Stunden, wonach er sie in absolutem Alkohol entfärbt. – Dadurch erhält man röthlich-braun gefärbte elastische Fasern.

FERRIA giebt die in Alkohol gehärteten Schnitte auf 5 Stunden in Chromsäurelösung (1:1000) bei der Temperatur 37° C. und färbt sie erst nach gründlichem Auswaschen im Wasser in MARTINOTTI's Safranin.

4. HEITZMANN (1890) behauptet, dass es genügt, die in FLEMMING'scher Lösung gehärteten Schnitte mit ammoniakalischer Karminlösung zu behandeln, wodurch die ungefärbten elastischen Fasern auf rosa gefärbtem Grunde erscheinen.

5. SCHÜTZ (1892) giebt in seiner Arbeit über Psoriasis vulgaris zwei Methoden mit Karbolfuchsin an.

a) Man mischt 2 Theile kalt gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung mit 1 Theil Karbolfuchsinlösung zusammen und färbt die Schnitte nur an der Oberfläche dieses Gemisches durch fünf Minuten. Dann werden sie mehrmals im Wasser abgespült, auf dem Spatel getrocknet und kurz im Alkohol entwässert. Es ist bei dieser Färbung sehr wichtig, dass der Schnitt auf der Oberfläche immer frisch znbereiteter Flüssigkeit schwimmt, denn diese Farbenmischung scheidet später einen klebrigen Bodensatz ab, mit dem der Schnitt nicht in Berührung kommen darf; daneben ist für diese Färbung vortheilhaft, dass man den Schnitt ganz kurz in Alkohol entwässert. also vorher genau das Wasser von dem Spatel absaugt und nach der Entwässerung rasch in Cedernöl bringt.

b) Man färbt die Schnitte durch 5 Minuten in Karbolfuchsin (GABETT's Lösung I), spült sie in Wasser ab und entfärbt dann 2—3 Sekunden in saurer Methylenblaulösung (GABETT's Lösung II) oder in 25%igem SO_4H_2-Wasser, spült sie wieder in Wasser ab und entwässert so rasch als möglich in Alkohol.

Diese beiden Methoden färben die elastischen Fasern rosaroth, indem die umgebenden Gewebe nur schwach gelblichgrau tingirt werden. Die Kerne werden röthlich, respektive bläulich gefärbt.

Ich habe öfters die in FLEMMING'scher Flüssigkeit gehärteten Schnitte mit verschiedenen basischen Farbstoffen, wie polychrom. Methylenblau (UNNA), Karbolfuchsin, Gentiana, Safranin gefärbt und sodann mit koncentrirter wässeriger Tanninlösung entfärbt. — die elastischen Fasern waren ganz deutlich zu sehen.

Dieser Gruppe kann man noch eine Methode einreihen, bei welcher man sich zwar nicht der FLEMMING'schen Lösung bedient, die Differenzirung des elastischen Gewebes jedoch durch Imprägnation mit anderen Stoffen zustande kommt.

6. MARTINOTTI (1888) legt nämlich die frischen Gewebstheile in Stücken von 2—3 Ccm. in eine 2%ige Lösung von Arsensäure und lässt sie darin 24 Stunden liegen. Aus der Arsensäure kommen die Stücke für 5—15 Minuten in MÜLLER'sche Flüssigkeit, dann in folgende Silber-Glycerinlösung: 2 Grm. Silbernitrat werden in 3 Ccm. destillirten Wassers gelöst und zu dieser Lösung fügt man 15—20 Ccm. reinen Glycerins. Die eingelegten Stücke schwimmen zunächst oben, durchtränken sich aber allmählich und sinken dann unter, so dass nach 24 Stunden die Wirkung gewöhnlich eingetreten ist. Dann wäscht man schnell in destillirtem Wasser aus und bringt das Präparat darauf in gewöhnlichen Alkohol, den man mehrmals erneuert. Damit

das Licht sie nicht in kurzem verderbe, taucht man die Schnitte ganz kurz in eine $^3/_4$%ige Kochsalzlösung und bringt sie aus dieser schnell in absoluten Alkohol. Dann hellt man sie in Kreosot auf und bringt sie in Kanadabalsam. Bewahrt man sie dann einigermassen vor Licht geschützt auf. so halten sich die Präparate sehr gut.

Die dritte Gruppe, zu welcher die Färbungen mit basischen Farben zählen, zerfällt in zwei Unterabtheilungen. In der einen werden zum Entfärben saure Lösungen gebraucht, in der anderen beruht die specifische Färbung mit basischer Farbe auf der Entfärbung oder Vorfärbung mit einer Beize.

A. Entfärbung mittels Säuren.

7. Taenzer (1887) härtet die excidirte Haut in absolutem Alkohol oder fixirt sie in Salpetersäure oder Flemming und härtet in absolutem Alkohol nach. Die Schnitte werden in Vesuvin oder Wasserblaulösung vorgefärbt und kommen dann in folgende Lösung: Fuchsin 0,5, Aq. destill., Alkohol. aa. 25,0, misce, adde Ac. nitric. (25%) 10,0, und verbleiben darin 24 Stunden, wonach man sie auf 2—3 Sekunden in 25%ige Salpetersäure und zur Entfärbung des Kollagens in schwaches Essigwasser giebt. Zuletzt entwässert man in Alkohol, hellt in Cedernöl oder Bergamottöl auf und schliesst in Kanadabalsam ein. Die elastischen Fasern erscheinen dunkelroth auf braunem, respektive blauem Grunde.

8. Manchot's (1886) Methode ist folgende: Färbung durch eine halbe Stunde in koncentrirter wässeriger Fuchsinlösung, dann in Wasser abspülen und 1—12 Stunden in wässeriger Zuckerlösung entfärben, welcher auf je 10 Ccm. 3—4 Tropfen Schwefelsäure zugesetzt werden. Die Zuckerlösung soll die Konsistenz des Glycerins besitzen und die Präparate sind in nicht angesäuerter Zuckerlösung einzuschliessen. Die Methode färbt Elastinfasern dunkelrosa, die Färbung aber ist nicht dauerhaft.

Hilbert giebt zur Zuckerlösung 8—10 Tropfen wässerigen Vesuvins zu.

9. Mibelli (1890) gebraucht zur Färbung eine Safraninlösung, welche so bereitet wird, dass eine 1%ige Lösung in heissem (80° C.) Wasser und eine 1%ige alkoholische (90%) zusammengegossen werden. In solcher Mischung bleiben die in Alkohol gehärteten Schnitte 36—48 Stunden. Hernach legt man sie in 1%igen Salzsäure-Alkohol, indem man diesen immer erneuert, solange die Schnitte noch Farbstoff abgeben, und lässt sie zuletzt in ganz reinem Alkohol durch 5—10 Minuten liegen; endlich kommen die Schnitte noch auf ein paar Minuten in absoluten Alkohol, dann in Oel und Balsam. Die röthlichbraun gefärbten elastischen Fasern treten scharf aus dem nur leicht gelblich gefärbten Kollagen hervor, die Zellkerne färben sich mehr röthlich.

10. Köppen (1889) empfiehlt nachstehende Methode: Die von jedem fremden Bestandtheile freien Schnitte bleiben 24 Stunden oder auch länger in absolutem Alkohol, worauf sie in folgende Flüssigkeit gebracht werden: Krystallviolett oder Gentianaviolett, koncentr. alkohol. Lösung 5,0, Ac. carbolic. 5,0, Aq. destill. 100,0. (Man kann auch statt dessen Gentianaalaunlösung nach Unna gebrauchen.) Er stellt die Lösung jedesmal frisch so her, dass er 20 Tropfen der koncentrirten alkoholischen Krystallviolettlösung in ein Reagensglas mittlerer Weite giebt, dieses mit der vorräthigen 5%igen wässerigen Karbolsäurelösung zu vier Fünftel anfüllt und den Inhalt in eine Deckeldose von $6^1/_2$—7 Cm. Durchmesser auslaufen lässt. Die Schnitte, für deren faltenlose Lagerung man Sorge zu tragen hat, verbleiben in der Farbflüssigkeit 15—24 Stunden. Weiter bringe man den Schnitt ganz glatt vermittelst des Spatels in die bekannte Jodjodkaliumlösung (1 : 2 : 300) auf 2 Minuten und hierauf auf 5 Minuten in eine 10%ige wässerige Kochsalzlösung; daraus giebt man den Schnitt auf 15 Sekunden in 1%ige wässerige

Salzsäurelösung, in welcher er fortwährend bewegt wird. Die Entfärbung erfolgt jetzt leicht in absolutem Alkohol, indem man das Objekt öfter in ein Uhrschälchen mit immer frischem Alkohol überführt, bis das Zwischengewebe in einem leicht gelben Tone zum Vorschein kommt. Zur Aufhellung überbringe man den Schnitt in Tereben bis zum Untersinken und für eine gleiche Zeitdauer in Xylol, woraus er in Kanadabalsam eingeschlossen wird. Zu Vorfärbungen kann man Ammoniak-, Pikro- oder Alaunkarmin gebrauchen, Nachfärbungen nur auf diese Weise ausführen, dass man zu dem entfärbenden Alkohol die Kontrastfarbe (Eosin, Fuchsin, Vesuvin) zusetzt. Die elastischen Fasern treten in dunkelblauer Farbe hervor.

B. Entfärbung mittels einer Beize.

11. Herxheimer (1886) zieht zur Härtung die Müller'sche Flüssigkeit den anderen Mitteln vor, weil darin die Struktur der Gewebe weniger leidet und die Entfärbung besser von statten geht. Zur Färbung gebraucht er eine Lösung von 1 Grm. Hämatoxylin, 20 Ccm. absoluten Alkohols, 20 Ccm. destillirten Wassers, 1 Ccm. kaltgesättigter wässeriger Lösung von Lithion carbonicum. Die Schnitte kommen auf 3—5 Minuten in die Lösung, dann direkt auf 5—20 Sekunden in die officinelle Eisenchloridlösung, wonach man sie gut in Wasser spült, in Alkohol entwässert und in Bergamottöl, Nelkenöl oder Xylol aufhellt. Die elastischen Fasern erscheinen blauschwarz bis tiefschwarz, das umliegende Gewebe hellgrau.

Ssudakewitsch fügt eine Bemerkung hinzu, dass die Dauer der Entfärbung in Liquor sesquichlor. eine sehr wichtige Bedingung für das Gelingen der Präparate ist und dieselbe in jedem Falle empirisch festgestellt werden soll.

12. Herxheimer hat später (1890) noch eine zweite Methode angegeben. Diese besteht in der Färbung der von Celloidin befreiten Schnitte, eine halbe Stunde lang, auf dem Objektträger in Anilinwassergentianaviolett, dann trocknet man die Präparate sorgfältig ab und entfärbt lange mit immer wieder abgetupftem und frisch zugesetztem 2%igem Menthol-Vasogen, bis ein hellblauer Ton zurückbleibt. Die elastischen Fasern werden violett gefärbt, sie verlieren aber mit der Zeit die Farbe.

13. Burci (1891) färbt die mit Alkohol oder Müller'scher Flüssigkeit behandelten Schnitte mit Karmin oder Hämatoxylin, wäscht sie dann in Wasser und legt die Schnitte in alkoholische gesättigte Aurantialösung (Dinitrophenylamin) auf 1—2 Stunden ein; endlich Entwässerung, Oel, Balsam. Die elastischen Fasern und die Kerne behalten Hämatoxylin, respektive Karmin, andere Gewebe sind gelblich tingirt.

14. Wolters (1892) bedient sich folgender Methode: Die in Alkohol gehärteten Schnitte beizt er 24 Stunden in einer Lösung von: 10%igem Vanadium chloratum 2 Theile, 8%igem Aluminium aceticum 8 Theile, spült sie dann in Wasser ab und färbt 24 Stunden im Wärmeschrank in Kultschitzky'scher Hämatoxylinlösung. Es folgt hierauf Differenzirung in Weigert's Borax-Blutlaugensalzlösung oder kurzes Eintauchen in Eisenchloridlösung, dann Wasser; ersteres ist sicherer. Man wird gut thun, die Entfärbung unter dem Mikroskop zu kontrolliren, damit durch zu lange Dauer der Einwirkung die feinsten Fasern nicht verschwinden. Die Fasern erscheinen schwarz auf gelblichem Grunde.

15. Beneke (1890) modificirte die Weigert'sche Fibrinmethode auf Grund der Wahrnehmung, dass, wenn man die entfärbende Fähigkeit des Anilinölxylols durch stärkeren Zusatz von Xylol herabsetzt, ausser Fibrin sich sodann auch eine Reihe anderer Gebilde, darunter auch elastisches Gewebe darstellen lässt. Die Modifikation beruht also darauf, dass man sich anstatt der Weigert'schen Mischung (1 Theil Xylol auf 2 Theile Anilinöl) einer stärker verdünnten (3 Theile Xylol auf 2 Theile Anilinöl) bedient. Die elastischen Fasern erscheinen leuchtend roth neben dem tiefblauen Kollagen und bläulich-violetten Kernen.

Die vierte Gruppe endlich umfasst die Methoden, bei welchen die Färbung mit sauren Farben geschieht.

16. Die TAENZER'sche Orceïnmethode, über welche UNNA auf der Bremer Naturforscherversammlung (1889) vorgetragen hat und welche er auch modificirt hat (1891), ist deshalb jetzt als TAENZER-UNNA'sche Methode allgemein bekannt.

Für diese Methode empfiehlt es sich, folgende Lösungen vorräthig zu halten: I. Orceïn (GRÜBLER) 0,1, Spir. vini (95%) 20,0, Aq. dest. 5,0; II. Ac. muriat. 0,1, Spir. vini 20,0, Aq. dest. 5,0; die beiden Lösungen werden vor dem Gebrauch zu gleichen Theilen gemischt und die Schnitte auf 12 bis 24 Stunden hineingebracht.

In den letzten Jahren wird im UNNA'schen Laboratorium anstatt dieser Lösungen eine 1%ige Orceïnlösung in 1%igem Salzsäurealkohol gebraucht, wodurch die Methode noch mehr an Einfachheit gewinnt. Auch Zeit wird in diesem neuen Verfahren erspart, denn anstatt einige Stunden bis eine Nacht werden die Schnitte in dieser neuen sauren Orceïnlösung nur 15—30 Minuten gehalten und schon nach dieser kurzen Färbezeit werden durch Entfärbung in Alkohol oder noch besser Salzsäurealkohol sehr deutliche Bilder erzielt. Die elastischen Fasern nehmen eine mehr oder weniger dunkle, braune Farbe an, wodurch sie von der fast ganz ungefärbten Umgebung stark abstechen.

Orceïn ($C_4H_7NO_6$) wurde zuerst durch ISRAEL (1886) in die mikroskopische und speciell bakteriologische Technik eingeführt. Es stellt einen Pflanzenfarbstoff dar, welcher die hauptsächlichsten tinktoriellen Eigenschaften der sogenannten basischen wie der sauren Farbstoffe, und zwar eine glückliche Kombination zweier Kontrastfarben in sich vereinigt. Man kann es auch als elektiv färbenden Stoff für elastische Fasern betrachten.

STUTZER hat bei dieser Methode folgende Mischung benutzt: 1%ige alkoholische Orceïnlösung 100 Ccm., destillirtes Wasser 50 Ccm., Salzsäure 50 Tropfen und empfiehlt für Celloidinschnitte eine halbe Stunde, für Paraffinschnitte 5—10 Minuten zur Färbung.

MERK bediente sich auch einer modificirten Lösung: Orceïn 0,5 Grm., Alkohol absol. 40 Ccm., destillirtes Wasser 20 Ccm., Salpetersäure 20 Tropfen. Von dieser Stammlösung nimmt man 8—10 Tropfen in etwa 10 Ccm. eines 3%igen Salzsäurealkohols und hierin verbleiben die Schnitte 24 Stunden.

17. WEIGERT hat in neuester Zeit (1898) eine neue Methode bekannt gegeben. Er hat folgende Fuchsinlösung zur Färbung empfohlen: Zu 200 Ccm. 1%iger Fuchsinlösung (es kann auch Rubinroth, Magentaroth, Anilinroth gebraucht werden) giebt man 4 Grm. Resorcin (anstatt dessen kann man Karbolsäure benützen), kocht die Mischung längere Zeit und giesst nach dem Sieden 25 Ccm. Liquor ferri sesquichlor. zu und kocht wiederum 2 bis 5 Minuten. Nach dem Erkalten filtrirt man die ganze Lösung und giebt den Bodensatz in die Schale, in welcher noch der Rest der früheren Lösung sich befindet, giesst dann 200 Ccm. 94%igen Alkohols zu und filtrirt abermals. Zum Filtrat werden 4 Ccm. koncentrirte Salzsäure zugegeben und das Ganze wird bis auf 200 Ccm. durch Alkohol nachgefüllt. In dieser Mischung färbt man die Schnitte 15—30 Minuten und entfärbt sie dann in Alkohol, wonach sie nur in Xylol aufgehellt zu werden brauchen. Eine Differenzirung in Salzsäurealkohol ist meistens nicht nöthig. Die elastischen Fasern erscheinen fast schwarz auf leicht violett gefärbtem Grunde.

Die beiden letzten Methoden entsprechen am meisten ihrer Aufgabe, Elastin elektiv zu färben. Die erste (TAENZER-UNNA'sche) hat einige Vorzüge, welche sie zugleich einfach und vortrefflich machen. Es ist sehr leicht, die nöthige Lösung herzustellen, sie färbt deutlich in kurzer Zeit; sie ermöglicht aber vor allem, die Präparate mittels anderer specifischer Methoden zu behandeln und auf diese Weise auf einem und demselben Präparate alle Gewebe durch differente Farben darzustellen. Orceïn färbt gut nicht nur die in Alkohol, sondern auch ebenso gut die in MÜLLER'scher oder FLEMMING'scher Flüssigkeit fixirten Präparate.

Anhang (basophiles Elastin, Elacin).

Die kombinirten Färbemethoden sind besonders dann vortheilhaft, wenn man mit veränderten elastischen Fasern zu thun hat, welche die Orceïnmethode differenzirt, indem sie die basophilen elastischen Fasern (Unna's Elacin) viel schwächer tingirt als die normalen.* Diese Elacinfasern bekommt man mit aller Schärfe, wenn man die Schnitte vorher mit basischen Farben (polychrom. Methylenblau, Karbolfuchsin, wässeriger Safraninlösung, Gentianaalauntinktion) behandelt und sie dann mit 33%iger Tanninlösung entfärbt. Eine andere genauere Methode, die Elacinfasern nachzuweisen, ist folgende: Die Schnitte kommen auf einige Minuten in eine 1%ige Wasserblaulösung, werden dann in Wasser abgespült und in Anilinwassersafraninlösung gebracht, wo sie etwa drei Minuten bleiben, und werden sodann in Wasser mit etwas Salzsäure abgespült und in absolutem Alkohol rasch entwässert. Das Elacin wird natürlich roth gefärbt.

Alle diese Methoden für Elacin kann man mit der Orceïnmethode kombiniren, wodurch vortreffliche Bilder erzielt werden, z. B.: Man färbt die Schnitte mit saurem Orceïn 15—30 Minuten, wäscht im Alkohol dilutus, dann im Wasser und giebt sie auf 5 Minuten in polychrome Methylenblaulösung; nach dem Ausspülen in Wasser entfärbt man die Schnitte einige Minuten in 33%iger wässeriger Tanninlösung mit etwas Orangezusatz. Nach gründlichem Auswaschen in Wasser sind die Präparate lange Zeit im Alkohol absolutus zu entwässern, worauf die gewöhnliche Procedur kommt.

Litteratur: 1) Balzer (Arch. de Phys., 1892), 2) Beneke (Verh. anat. Ges. Göttingen, 1893), 3) A. Blaschko (Arch. mikr. Anat., Bd. 27, 1886), 4) Burci (Journ. Roy. micr. Soc., Bd. 6, 1891), 5) A. Dührssen (Arch. Gynäk., Bd. 41, 1892), 6) Ebner (Sitz. Akad. Wiss., Wien, Bd. 72, 1875), 7) L. Ferria (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), 8) F. Hansen (Virch. Arch., Bd. 137, 1894), 9) Heitzmann (Arch. Derm., 1894, Bd. 27), 10) Herxheimer (Fort. Med., Bd. 4, 1886), 11) derselbe (Arch. Derm. Syph., Bd. 29, 1890), 12) Hilbert (Virch. Arch., Bd. 142, 1895), 13) O. Israel (Virch. Arch., Bd. 105, 1886), 14) Joseph und Loewenbach (Dermato-histologische Technik, Berlin 1900), 15) Kölliker (Zeit. wiss. Zool., Bd. 44, 1886), 16) A. Köppen (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889 und Bd. 7, 1890), 17) F. Krzysztalowicz (Monat. prakt. Derm., Bd. 30, 1900), 18) N. Kuskow (Arch. mikr. Anat., Bd. 30, 1887), 19) Ledermann und Ratkowski (Die mikrosk. Technik im Dienste der Dermatologie, Wien und Leipzig 1894), 20) F. Livini (Monit. Zool. Ital., Bd. 7, 1896), 21) Lustgarten (Wien. med. Jahrb., 1886), 22) Manchot (Virch. Arch., Bd. 121), 23) G. Martinotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), 24) derselbe (Com. Real. Accad. Med., Torino 1888), 25) L. Merk (Sitz. Akad. Wiss., Wien, Bd. 108, 1899), 26) V. Mibelli (Monit. Zool. Ital., vol. I, 1890), 27) Pfeuffer (Arch. mikr. Anat., Bd. 16), 28) Pokrowsky (Inaug.-Diss., Moskau 1897), 29) Renault (Arch. de Phys. 1875), 30) Ph. Sappey (Traité d'anatomie générale, Paris 1894), 31) Schäffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), 32) J. Schütz (Arch. Derm. Syph., 1892), 33) J. Ssudakewitsch (Virch. Arch., Bd. 115, 1889), 34) Stutzer (Arch. Ophth., Bd. 44, 1898), 35) P. Taenzer (Monat. prakt. Derm., 1887), 36) P. G. Unna (Monat. prakt. Derm., Bd. 5, 1886), 37) derselbe (Monat. prakt. Derm., Bd. 19), 38) derselbe (Bericht über die Taenzer'sche Orceïnmethode zur Färbung der elast. Fasern auf Bremer Naturforscher-Versammlung 1890), 39) derselbe (Monat. prakt. Derm., Bd. 12), 40) C. Weigert (Centr. allg. Pathol., Bd. 9, 1898), 41) M. Wolters (Arch. Derm. Syph., 1892), 42) L. Zenthoefer (Derm. Stud., 1892).

Krzysztalowicz, Krakau.

Eleïdin siehe Haut.

Elektive Färbung siehe Färbung.

Elektrische Organe. Das Gewebe der elektrischen Organe der Fische setzt sich aus einem die gröberen Nerven und Gefässe führenden Bindegewebsgerüst und den elektrischen Riesenzellen, den Elektroplaxen, elektrischen Platten, zusammen. Die letzteren sind der wichtigere Bestandtheil, an welchem die elektrischen Nerven ihre Endigung finden, und in

* Ueber das Vorkommen basophiler elastischer Fasern siehe ausser Unna's Histopathologie der Haut (1894, Hirschwald, Berlin) den unten citirten Artikel: Elastin und Elacin[37]) und den von Krzysztalowicz[17]).

welchem die Elektricität erzeugt und im Momente des Schlages ausgelöst wird.

Bei der Konservirung kommt es darauf an, in erster Linie die Substanz dieser Elektroplaxen mit den daran befindlichen Nervenendigungen möglichst lebensgetreu zu fixiren. Da das elektrische Gewebe sehr hinfällig und zart ist und sich nach dem Tode sehr bald verändert, ist es geboten, die Präparate dem schlagkräftigen lebenden oder frisch getödteten Fische zu entnehmen. Kleine Organstücke kommen in ein reichliches Quantum der Fixirungsflüssigkeit.

So verschieden, wie die Form und der Aufbau der elektrischen Organe bei den einzelnen Gattungen der elektrischen Fische sind, ebenso verschieden reagirt im allgemeinen auch ihr elektrisches Gewebe auf die Reagentien, obwohl die feinste Struktur der Elektroplaxe bei allen elektrischen Fischen eine sehr bemerkenswerthe Uebereinstimmung zeigt. Die Untersuchungsmethoden müssen daher für eine jede Gattung der elektrischen Fische gesondert besprochen werden. Dabei soll aber nicht gesagt sein, dass die Untersuchungsmethodik für diese Gewebsart schon vollkommen abgeschlossen ist. Vielmehr steht hier für systematisch anzustellende Versuche, besonders mit neueren Reagentien, z. B. Formol und formolhaltigen Kompositionen, noch ein weites Feld offen.

In folgendem können nur die als zuverlässig erprobten und wichtigeren Untersuchungsmethoden besprochen werden.

Stark elektrische Organe.

I. Zitterrochen, Torpedinidae.

(Es wurde bis jetzt nur das Genus Torpedo näher untersucht.)

A. Ausgewachsenes Thier.

1. Untersuchung des frischen Gewebes.

Die dünnen, durchsichtigen, mit ebenen Oberflächen versehenen Platten (Elektroplaxe) des Zitterrochens eignen sich am meisten unter allen elektrischen Organen zur Untersuchung in lebensfrischem Zustande. Zu diesem Zwecke isolirt man sie frisch am besten in der folgenden von M. Schultze näher angegebenen Weise. Nach Entfernung der Haut von der Oberfläche des Organes oder nach Anlegung eines frischen Querschnittes durch einige Prismen desselben werden die letzteren durch den untergelegten Finger so angespannt, dass sich die freigelegten Flächen der Prismen halbkugelig dem Beobachter entgegenwölben. Meist treten nach sorgfältiger Entfernung der Haut von der Oberfläche des sonst unverletzten Organs die Oberflächen der Prismen auch schon ohne Druck kuppelförmig hervor. Jetzt trage man eine dieser Kuppen mit einer aufs Blatt gebogenen feinen Scheere, wie es schon Savi gethan hat, oder mit einem scharfen Rasirmesser so ab, dass man ein Schnittchen nur aus der Mitte des Primas erhält, nicht aber die faserig bindegewebige Seitenwand mit abschneidet. Das Präparat wird nun möglichst schnell in einen Tropfen Liquor cerebrospinalis des Zitterrochens, den man sich vor Beginn der Untersuchung sammelt, unter einer Präparirlupe so zerlegt, dass man die immer noch zahlreich übereinander geschichteten Blätter von einander abhebt. So erhält man nach einiger Uebung wenigstens das eine oder das andere Plättchen ganz isolirt, wenn auch die Isolirung im frischen Zustande des Organs, in welchem das Gallertgewebe zwischen den einzelnen Plättchen eine ziemliche Resistenz besitzt, nicht ganz leicht ist. Nimmt man dagegen einen Querschnitt des ganzen Primas mit einem Theil seiner bindegewebigen Umhüllung zum Zerzupfen, so be-

merkt man sogleich, dass die Platten in der Nachbarschaft der Hülle so fest aneinander hängen, dass die Loslösung einzelner bei der grossen Zartheit, die sie besitzen, nur in Bruchstücken möglich ist.

Statt des Liquor cerebrospinalis kann man auch die Organflüssigkeit des elektrischen Organs selbst oder Humor aqueus des Rochens nehmen: weniger zu empfehlen ist physiologische Kochsalzlösung (0,5—0,75%).

In Liquor cerebrospinalis werden auch die mit dem Gefriermikrotom hergestellten Schnitte untersucht.

2. Fixirung.

Zur Fixirung des Torpedoorgans sind von den einzelnen Autoren alle möglichen Reagentien, oft die allerunzweckmässigsten, in Anwendung gebracht worden; es würde zu weit führen und zwecklos sein, sie alle namhaft zu machen. Hier sollen daher nur die Reagentien berücksichtigt werden, welche sich bewährt und die Kenntniss des feineren Baues des Organes mehr oder weniger gefördert haben. Das für die Fixirung der Torpedoplatte am meisten zur Anwendung gekommene Reagens ist die von M. Schultze 1864 in die mikroskopische Technik eingeführte

a) Osmiumsäure. M. Schultze selbst hat sie bei seinen Untersuchungen der elektrischen Organe noch nicht benutzt; sie wurde zuerst von Boll bei Torpedo versucht. Entschieden ist die Osmiumsäure allein oder in Komposition mit anderen Reagentien für das Zitterrochenorgan das zuverlässigste Fixirungsmittel. Sie fixirt am besten das Terminalnetz, die Stäbchen, das Bild der Boll'schen Punktirung und das Gerüstwerk der Platte. Das Bild, welches eine mit Osmiumsäure fixirte isolirte Platte von der Fläche gesehen darbietet, gleicht am meisten demjenigen der frischen Platte, nur dass alle Strukturen deutlicher und schärfer hervortreten. Den Nachtheil hat sie indessen, dass die Substanz der Platte durch ihre Einwirkung etwas schrumpft.

Mit Bezug auf die Untersuchung der mit Osmiumsäure fixirten und isolirten Platte im Flächenbild sei betont, dass die Platte horizontal ausgebreitet sein muss, keine Faltungen besitzen und auch nicht einseitig gezerrt sein darf. Besonders der letztere Umstand wirkt störend auf die Form der terminalen Nervenverästelung. In den Zupfpräparaten sind auch die Rissstellen der Platten für die Untersuchung werthvoll, weil in den Osmiumpräparaten dabei die Schichten der Platten sich leicht voneinander trennen und isolirt zur Ansicht kommen. Schliesslich darf nicht unerwähnt bleiben (und gilt dies auch für Zupfpräparate der Elektroplaxe der anderen elektrischen Fische), dass es von Wichtigkeit ist, die Untersuchung dieser zarten Strukturen in Wasser vorzunehmen, da Glycerin oder gar Balsam ohne weitere Färbung zu sehr aufhellen. Für den Einschluss dieser Präparate empfiehlt sich gleichfalls Wasser mit etwas (1%) Karbolsäurezusatz, wie Ranvier vorgeschlagen hat, oder koncentrirte Lösung von Kali aceticum, weniger verdünntes Glycerin.

Man benutzt zur Fixirung 0,5—2%ige, gewöhnlich 1%ige Lösung von Osmiumsäure. Ihre Anwendung auf das lebende Organgewebe kann in zweifacher Weise stattfinden.

Entweder legt man herausgeschnittene Stücke, am besten abgeschnittene Prismenkuppen (siehe oben unter 1), in die Lösung hinein. Die Stücke müssen klein sein, da die Osmiumsäure bekanntlich schwer eindringt. Zur Fixirung bleiben die Stücke 24 Stunden in der Säure.

Oder man injicirt die Osmiumsäure in stärkerer (2%iger) Koncentration vermittelst einer feinen Spritze in das lebende Torpedoorgan. Diese Methode, welche den Vortheil bietet, dass die Elektroplaxe in ihrer natürlichen Lagerung ausgebreitet fixirt werden, ist zuerst von Ranvier für die Unter-

suchung des Torpedoorgans eingeführt worden. RANVIER injicirte in der Weise, dass er die Nadel der Spritze horizontal quer durch ein Prisma hinreichend tief hindurchstiess, so dass ihre Spitze ein zweites oder drittes Prisma nahe unter der Oberfläche erreichte, und dann die Flüssigkeit in die Nachbarschaft austrieb. Mit Recht bemerkt hierzu IWANZOFF, dass die Flüssigkeit bei der Injektion sich leichter in den Scheidewänden zwischen den Prismen als innerhalb der die Platten enthaltenden Fächer ausbreitet. Dieser Autor hat daher empfohlen, die Nadel der Spritze senkrecht von oben nach unten in ein Prisma einzustechen und während der Injektion allmählich herauszuziehen. Die injicirten Stellen bräunen sich nach einigen Minuten und werden dann herausgeschnitten, um noch auf 24 Stunden in Osmiumsäure gelegt zu werden.

Wenn man der Osmiumsäurelösung ein Stück Kampher hinzusetzt, so lassen sich die osmirten Stücke eine zeitlang darin konserviren. Besser ist es aber, wenn das Material zum Zerzupfen benutzt werden soll, dasselbe nach Wasserspülung in eine Mixtur von Aqua destillata, Alkohol absolutus und Glycerin zu gleichen Theilen zu legen, worin es sich lange hält.

Sollen die osmirten Stücke später geschnitten werden, so muss die Härtung in Alkohol sehr vorsichtig vorgenommen werden, da sonst leicht ungleichmässige Schrumpfungen der dünnen Platten eintreten. Man muss nach der Wasserspülung mit dünnem Alkohol (30%) beginnen und allmählich zu stärkeren Koncentrationen vorschreiten. Alkoholmaterial lässt sich nach eingetretener Härtung auch noch zu Zupfpräparaten verwerthen. Um von diesem Material die Platten durch Zupfen zu isoliren, verfährt man am besten in der Weise, dass man ringsherum die Primen beschneidet, so dass nur der mittlere Theil der Platten übrig bleibt, der sich dann in seine Elemente zerlegen lässt.

Zur Nachbehandlung der mit Osmiumsäure durch Einstich in das Organ erhaltenen Fixirungen haben RANVIER, W. KRAUSE und IWANZOFF Chromsäuresalze (MÜLLER'sche Flüssigkeit, Ammonium bichromicum [2%] und besonders Kalium bichromicum [2%]) empfohlen; die Stücke kommen nach der Wasserspülung direkt in diese Lösungen und können darin längere Zeit, nach RANVIER selbst jahrelang, verbleiben. Die Platten sollen hierin weniger schrumpfen als bei einfacher Osmiumsäurebehandlung. Auch Eisenchloridlösung (1—2%ige Lösung in dünnem Alkohol) ist hierzu benutzt worden.

Nicht minder gute Dienste als die reine Osmiumsäure leistet die

b) Chromosmiumessigsäure nach FLEMMING, und zwar sowohl das starke (1%ige Chromsäure 15 Vol., 2%ige Osmiumsäure 4 Vol., Eisessig 1 Vol. [oder weniger]) als das schwache (1%ige Chromsäure 25 Vol., 1%ige Essigsäure 10 Vol., 1%ige Osmiumsäure 1 Vol., Aq. dest. 55 Vol.) Gemisch, deren Anwendung die gleiche ist wie die der Osmiumsäure.

c) Auch Chromsäuresalze wurden für manche Strukturen, z. B. die Fixirung des Bildes der Punktirung, mit Erfolg angewandt, insbesondere MÜLLER'sche Flüssigkeit, Kalium bichromicum (2%) und Ammonium bichromicum (2%).

Die Organstücke können in diesen Flüssigkeiten längere Zeit konservirt werden, nur muss ein Stückchen Kampher hinzugesetzt werden.

3. Metallimprägnationen.

a) Argentum nitricum. Eine grosse Rolle haben eine Zeitlang in der Untersuchungstechnik des Torpedoorgans die negativen Silberbilder gespielt, welche hauptsächlich von CIACCIO, BOLL und RANVIER zum Studium der Plattenstruktur herangezogen wurden. Indessen ist die Versilberung der Platten sehr unzuverlässig und liefert meist Trugbilder. Gelingt sie stellenweise, so giebt sie im besten Falle ein negatives Bild des Nervenendnetzes.

Auch die Silberlösung (1%ige wässerige Lösung von Argentum nitricum) wird am besten mit einer Pravaz'schen Spritze in das Organ injicirt. Die weiss gewordenen Stellen werden herausgeschnitten, mit Wasser abgespült und in Wasser oder $^{1}/_{3}$-Alkohol dem Sonnenlichte ausgesetzt.

Ranvier erzielte dadurch gute Resultate, dass er die frei präparirte Oberfläche der Prismen mit einem Argentum nitricum-Stift betupfte.

Ewald bestrich die Prismenflächen vermittelst eines Pinsels mit Argentum nitricum-Lösung (1%). Die so behandelten Platten wurden dann herausgeschnitten und in mit Ameisensäure angesäuertem Drittel-Alkohol im Sonnenlichte reducirt. Die Platten lassen sich nach dieser Methode leicht isoliren.

b) Vergoldung. Die Vergoldung der Platten liefert ein positives Bild des Terminalnetzes, gelingt aber bei Torpedo nur selten. Der Grund hierfür ist wohl darin zu suchen, dass die dabei angewandten Säuren die Nervenendigungen verändern oder selbst ganz zerstören. Schon v. Kölliker hat nachgewiesen, dass Säurezusatz auf das Nervenendnetz sehr deletär einwirkt. Auch bleibt die Färbung der Nervenenden in den Goldpräparaten nur schwach.

Folgende Vergoldungsmethoden sind versucht worden:

Kleine Organstücke werden in 1%iger Lösung von Goldchlorid oder in schwache ($^{1}/_{10}$%ige) Lösung von Kalium-Goldchlorid auf $^{1}/_{4}$—$^{1}/_{2}$ Stunde gelegt und darauf in dünnem Alkohol, dem einige Tropfen Ameisen- oder Essigsäure zugesetzt sind, im Sonnenlicht reducirt.

Nach der Vergoldungsmethode von Ranvier kommen die Stücke auf 1 Stunde in eine zuvor abgekochte und abgekühlte Lösung von 4 Theilen 1%iger Goldchloridlösung und 1 Theil Ameisensäure. Sie werden dann in mit etwas Essigsäure angesäuertem Wasser dem Sonnenlicht ausgesetzt.

Auch die Löwit'sche Methode hat Anwendung gefunden. Nach Vorbehandlung während ganz kurzer Zeit mit Ameisensäure (1 Theil Säure auf 2 Theile Aq. dest.) werden die Stücke auf eine Viertelstunde im Dunkeln in 1%ige Goldchloridlösung und schliesslich auf je 24 Stunden in Ameisensäure von obiger Koncentration und in koncentrirte Ameisensäure gelegt. Eine kombinirte Osmium-Goldchloridbehandlung wird von Ranvier befürwortet. Elektrische Platten, welche nach interstitieller Injektion von 2%iger Osmiumsäure (siehe oben) und nach 24stündiger Maceration in demselben Reagens isolirt wurden, werden einige Tage lang in verdünntem Alkohol aufbewahrt. Mit destillirtem Wasser gewaschen, werden sie auf einen Objektträger gelegt mit nach oben gekehrter ventraler Fläche. Man giesst sodann auf ihre Oberfläche einige Tropfen einer $^{1}/_{2}$%igen Goldchloridkaliumlösung. Beinahe unmittelbar darauf tritt eine Aenderung in der Färbung ein. Die elektrische Platte, welche schwärzlich war, wird grünlich, schmutzigblau oder violett. Die violetten Platten sind allein brauchbar. Sie werden nach Spülung in destillirtem Wasser in Glycerin konservirt. Die Färbung der Nervenendigungen wird dadurch kräftiger als bei einfacher Osmiumbehandlung.

Auch eine Kombination der Silber- und Goldmethode ist von Ciaccio versucht worden, liefert aber nur sehr zweifelhafte Resultate. Ciaccio legte Organstücke zuerst auf $^{1}/_{2}$ Stunde in 0,5—1%ige Lösung von Goldchlorid, dann auf einige Minuten in 0,2%ige Silbernitratlösung, worauf die Reduktion in Wasser am Sonnenlichte vorgenommen wurde.

Nach einem anderen Verfahren desselben Autors wird mit einer Spritze 0,33%ige Lösung von Argentum nitricum in das Organ injicirt. Die weiss gewordenen Stücke werden herausgeschnitten, in Wasser schnell abgespült und auf einige Sekunden in 0,1%ige Goldchloridlösung getaucht. Reduktion in Wasser wie oben. Die Behandlung mit Argentum nitricum kann auch durch Bestreichen mit einem Argentum nitricum-Stift vorgenommen werden.

c) Golgi'sche Methode. Die Imprägnation mit chromsaurem Silber nach dem von Ramón-y-Cajal angegebenen sogenannten schnellen Golgi'schen Verfahren wurde zuerst von dem Unterzeichneten bei den elektrischen Fischen versucht und führte zu werthvollen Ergebnissen. Durch sie lassen sich nicht allein die an das Terminalnetz herantretenden Geweihfasern, das Terminalnetz selbst, die Stäbchen und ein Stäbchennetz imprägniren, es inkrustiren sich auch das zarte Gerüst innerhalb der Platte, die Körner und im Gallertgewebe die Zellen bis in ihre feinsten Ausläufer. Mithin lassen sich die meisten und zugleich wichtigsten Strukturen des elektrischen Gewebes von Torpedo vermittelst der Golgi'schen Methode sichtbar machen, wie auch Crevatin bestätigt hat, welcher diese Methode einige Jahre nach Ballowitz bei Torpedo anwandte, ohne Neues beizubringen. Wie ja auch sonst bei der Golgi'schen Methode färben sich diese Bestandtheile nicht immer gleichzeitig, sondern stellenweise einzeln. Bei der Herstellung der Golgipräparate vom Torpedoorgan verfährt man folgendermassen.

In dem elektrischen Organ des erwachsenen Thieres wird nach Entfernung der Haut jedesmal ein elektrisches Säulchen in dem Gewebe der benachbarten Säulchen umschnitten und in der Höhe von $^1/_2$—1 Cm. mit einem scharfen Rasirmesser abgetragen, so dass kleine Stückchen des elektrischen Gewebes erhalten werden, in deren Mitte sich ein intakter Abschnitt eines einzelnen Säulchens befindet. Hierdurch wird eine Quetschung und Verletzung des herausgeschnittenen Säulenstückchens vermieden. Die Stücke werden sofort in ein reichliches Quantum des Gemisches (Kalium bichromicum 3%ige Lösung 4 Vol., 1%ige Osmiumsäurelösung 1 Vol.) gelegt. Von der Osmiumsäure kann auch ein um das Doppelte grösserer Zusatz genommen werden. Nach einem 3—4tägigen Aufenthalte in dem Gemisch werden die Stücke schnell in einer dünnen Lösung von Argentum nitricum abgewaschen und sodann auf 1—3 Tage in $^3/_4$%ige Lösung von Argentum nitricum gebracht. Geschnitten wird freihändig ohne weitere Behandlung, die Schnitte kommen in Xylolbalsam. Eine gute Färbung tritt nur in dem umschnittenen, central gelegenen Säulchen auf, während das verletzte elektrische Gewebe der Umgebung unregelmässige, meist krystallinische Niederschläge zeigt. Die guten Stellen verrathen sich schon durch eine braunrothe bis dunkelbraune Färbung. Eigenthümlich ist das fleckenweise Auftreten der Färbungen, welche sich auf die übereinander gelagerten elektrischen Platten unregelmässig vertheilen.

4. Färbung.

Zu Tinktionen sind in erster Linie Hämatoxylin- und Hämateïngemische und Karmine in Anwendung gebracht worden, besonders die ersteren, wobei aber zu bemerken ist, dass die ausschliesslich mit Osmium fixirten, mit Alkohol nachbehandelten elektrischen Platten sich schlecht färben. Eine bessere Färbung mit Hämatoxylin ermöglicht die Nachbehandlung der osmirten Stücke mit Chromsäuresalzen, insbesondere mit Ammonium bichromicum (2%) und Kalium bichromicum (2%) (siehe oben). Alkoholisches Hämatoxylin (nach Kleinenberg) verdient den Vorzug. Iwanzoff empfiehlt hierfür das folgende Verfahren. Isolirte Platten oder kleine Stückchen des Organs, welche durch Injektion von 1%iger Osmiumsäure fixirt und mit 2%iger Kalium bichromicum-Lösung nachbehandelt wurden, werden leicht mit Wasser abgespült und darauf für 24 Stunden in eine stark verdünnte wässerige Lösung von Hämatoxylin gelegt. Die Farbstofflösung wird zweckmässig einmal erneuert. Eine Ueberfärbung tritt nicht ein. Im Falle des Misslingens kann man die Manipulation wiederholen, d. h. die Platten auf einige Zeit in Kalium bichromicum, dann in Hämatoxylin überführen. Besonders die Axencylinder der feineren Nervenzweige und die sie be-

kleidende SCHWANN'sche Scheide, oft auch das Terminalnetz, werden gut gefärbt.

W. KRAUSE benützte zur Tinktion Anilinfarben, besonders Säurefuchsin. Das durch Injektion von 1%iger Osmiumsäure fixirte Stück wird nach Wasserspülung in gesättigte wässerige Lösung von Säurefuchsin auf 24 Stunden gelegt und dann ebensolange in mit Säurefuchsin gesättigten 50%igen, 70%igen, 90%igen und schliesslich absoluten Alkohol übergeführt. Sodann Chloroform- und Paraffineinbettung.

Für die Untersuchung isolirter Platten und von Zupfpräparaten leistet schliesslich die Färbung mit stark tingirenden Anilinfarben, besonders mit Gentianaviolett, Dahlia, Methylviolett u. a. sehr gute Dienste, wenn die tingirten Präparate in Wasser untersucht werden.

5. Vitale Methylenblaufärbung nach EHRLICH.

Bei dem elektrischen Organ von Torpedo wollte die Nervenfärbung mit Methylenblau bis jetzt noch nicht gelingen, wie aus den von CREVATIN angestellten Versuchen hervorgeht. Auch der Unterzeichnete konnte damit noch nicht zu befriedigenden Resultaten bei Torpedo kommen.

6. Isolirung.

Kommt es darauf an, die elektrischen Platten des Torpedoorgans in ganzer Ausdehnung zu isoliren, ohne dass auf die Konservirung ihres feineren Baues Rücksicht zu nehmen ist, so kommen die folgenden Verfahren in Betracht.

Nach M. SCHULTZE gelingt die Isolirung an Holzessigpräparaten, an denen das Bindegewebe so weich und locker wird, dass die einzelnen Prismen fast spontan auseinanderfallen und auch die Plättchen sich ohne grosse Mühe bis zum Rande trennen lassen. Ganz vollständig isoliren sich die letzteren durch Kochen in Wasser, wobei das Bindegewebe in Leim aufgelöst wird, oder durch 24stündige Maceration in verdünnter Salzsäure 1‰, der die Plättchen, nicht aber die Bindegewebshäute widerstehen, so dass erstere allein zurückbleiben. Durch halbstündiges Kochen können ansehnliche Stücke des elektrischen Organs fast ganz in einzelne Plättchen verwandelt werden.

IWANZOFF wandte zu dem gleichen Zweck 5%ige Lösung von Salpetersäure (spec. Gew. 1,20) in Alkohol an. Aeusserlich verändern sich darin die Organstückchen sehr wenig, zerfallen aber leicht in einzelne Prismen, welche sich ihrerseits wieder durch leichtes Schütteln in die Elektroplaxe zerlegen lassen.

Dasselbe wird nach W. KRAUSE durch 2tägige Maceration in 10%iger Chloralhydratlösung erreicht.

In koncentrirter wässeriger Lösung von Pikrinsäure gelingt nach CREVATIN die Isolirung der Platten leicht.

B. Torpedoembryonen.

Bei der Untersuchung der Entwicklung des elektrischen Organs an Torpedoembryonen bediente sich OGNEFF der folgenden Methoden.

Von lebenden Embryonen wurden kleine Organstücke mit einer scharfen Scheere abgeschnitten, und zwar so, dass die Säulchen nie quer getroffen wurden, sondern immer der Länge nach in dorso-ventraler Richtung. In der Mitte eines kleinen kubischen Stückchens blieben dann einige Säulen gänzlich unversehrt, welche allein untersucht wurden.

Zur Fixirung bediente sich OGNEFF der 1—2%igen Osmiumsäure, der FLEMMING'schen (siehe oben) und besonders der HERMANN'schen Flüssigkeit (15 Theile 1%iger Platinchloridlösung, 1 Theil Eisessig und 4 Theile

2%iger Osmiumsäure). Nach Behandlung mit der letzteren (24—48 Stunden) wurden die Stücke in 70%igen Alkohol übertragen. Lösungen von Sublimat und verschiedene Gemische desselben mit Pikrinsäure, Osmium und anderen Säuren boten keinen Vortheil vor reiner Osmiumsäure und HERMANN'scher Flüssigkeit, gaben vielmehr schlechtere Bilder.

Zur Färbung wurde Safranin oder Hämatoxylin (nach DELAFIELD: Hämalaun, Hämocalcium) benutzt. Nach OGNEFF liefern die so gefärbten Präparate aber keine besseren Bilder als die ungefärbten. Sehr gute Resultate gab die Färbung nach R. HEIDENHAIN (Hämatoxylin, Kalium bichromicum); an solchen Präparaten traten die Nervenendigungen merklich schärfer hervor, während die Schwärzung nach KOLOSSOW (Osmium, Pyrogallol) gar keine besonderen Vorzüge darbot.

Auch die GOLGI'sche Methode glückt bei Torpedoembryonen und wird hier ebenso ausgeführt, wie oben für den ausgewachsenen Fisch angegeben ist. Die Schnitte müssen bei dem Zerschneiden des embryonalen Organs durch die ganze Dicke des Organs geführt werden. Auch hier imprägniren sich nur die mittleren, von den schneidenden Instrumenten nicht berührten Säulchen. Längeres Verweilen der Stücke in dem Golgigemisch als 1—3 Tage wirkt schädlich. Sehr oft tritt eine Imprägnation bei Embryonen nicht ein, ohne dass sich dafür ein Grund auffinden liesse. OGNEFF schien es, dass das Gelingen der Golgipräparate vom Alter des Embryos abhängt. Wenigstens gelangen ihm die besten Imprägnationen an sehr jungen und dann an schon ziemlich entwickelten (5—7 Cm. Länge) Embryonen. In einigen Perioden der Entwicklung wollte trotz aller Mühe die GOLGI'sche Methode nicht gelingen.

Die vitale Methylenblaufärbung nach EHRLICH wurde von OGNEFF in verschiedenen Modifikationen versucht (gewöhnlich wurde eine $^1/_4$%ige Lösung von Methylenblau in filtrirtem Meerwasser benützt), eine Färbung der Nerven wollte aber nicht eintreten.

II. Zitteraal, Gymnotus electricus.

Die Elektroplaxe des Zitteraales stellen schmale bandartige, im Vergleich mit denen vom Torpedo relativ dicke Gebilde dar, deren Vorderfläche durch die abgerundeten Papillen, deren Hinterfläche durch die mit den Nervenendigungen besetzten Zotten uneben und rauh erscheint.

1. Fixirung.

Am besten bewährten sich dem Unterzeichneten schwache FLEMMING'sche Lösung und koncentrirte wässerige Sublimatlösung, welche die feinere Struktur der Platte, die Stäbchen u. s. w. am besten fixirten. Zur Anfertigung von Schnitten Härtung in von 30—90% langsam ansteigendem Alkohol und Einbettung in Celloidin oder Paraffin von 52—55° C. Schmelzpunkt.

Die Osmiumsäure, besonders die 1%ige, erwies sich dagegen als wenig geeignet, da sie durchgehends eine oft starke Schrumpfung und Verunstaltung der elektrischen Platte des Zitteraales hervorruft.

Die mit FLEMMING'scher Lösung und Osmiumsäure behandelten Stücke eignen sich auch zu Zupfpräparaten, wenn sie nach der Wasserspülung in der Mixtur von Aq. dest., Alk. absol. und Glycerin zu gleichen Theilen aufbewahrt werden.

Behandlung des frischen Gewebes mit Alkohol und MÜLLER'scher Lösung ist nur imstande, die gröberen Strukturen zu erhalten.

2. Metallimprägnation.

a) Goldchlorid (0,5%ige Lösung mit nachfolgender Reduktion in essigsäurehaltigem Wasser am Licht) bringt bei gutem Gelingen der Im-

prägnation die feineren markhaltigen und die kurzen marklosen Nerven mit den Nervenendigungen zur Darstellung; auch geben Goldpräparate oft sehr instruktive Uebersichtsbilder der Platten. In Mixtur (siehe oben) aufbewahrte vergoldete Organstücke liefern auch gute Zupfpräparate.

b) Die GOLGI'sche Methode wollte dem Unterzeichneten bei Gymnotus nicht glücken; es liessen sich mit ihr nur Theile des in der Platte befindlichen Netzgerüstes inkrustiren.

3. Färbung.

Es kommen dieselben Färbungen wie bei Torpedo (siehe oben) zur Anwendung.

4. Vitale Methylenblaufärbung nach EHRLICH.

Nach Vorversuchen an einem lebenden Exemplar scheinen die Nervenfasern des Zitteraales im elektrischen Organ an der Hinterfläche der Platten auf Methylenblau durch specifische Färbung zu reagiren.

III. Zitterwels, Malopterurus electricus.

Das elektrische Organ des Zitterwelses ist mit der Haut, unter welcher er liegt. fest verwachsen und überzieht als dicker Mantel den Körper, nur die Kopfgegend, die Flossen und den Schwanz freilassend. Bei der Konservirung bleibt das elektrische Gewebe am besten an der Haut, da es nicht ohne Verletzung abpräparirt werden kann.

1. Fixirung.

Als geeignete Fixirungsmittel erwiesen sich dem Unterzeichneten folgende Reagentien.

a) Pikrinsäure-Sublimatlösung. 3 Theile koncentrirte wässerige Pikrinsäurelösung und 1 Theil einer in 0,75$^0/_0$iger Kochsalzlösung gesättigten Sublimatlösung; sodann Alkoholhärtung und Konservirung in Alk. absol. In dieser Lösung schrumpft zwar die bindegewebige Gallertsubstanz zwischen den Elektroplaxen infolge von Wasserentziehung sehr erheblich, die Platten selbst dagegen schrumpfen nur wenig und machen den Eindruck einer guten Fixirung. Besonders gut sind das Netzgerüst der Platte, die Stäbchen und die Punktirung erhalten.

b) 5$^0/_0$ige Lösung des Doppelsalzes, welches Sublimat mit doppelchromsaurem Kali bildet. Alkoholhärtung und Konservirung in Alk. absol. Die Plattensubstanz konservirt sich gut, färbt sich aber schlecht. Besonders die Stäbchen sind deutlich und schon im ungefärbten Präparat zu erkennen. Die Gallertsubstanz schrumpft weniger als bei *a)*, ist aber zum grössten Theil erweicht und aufgelöst.

c) 5$^0/_0$ige Lösung von Kalium bichromicum und 4$^0/_0$ige Lösung von Formol zu gleichen Theilen. Sodann Alkoholhärtung und Konservirung in Alk. absol. Giebt ähnliche Resultate wie *b*, nur schrumpft die Gallertsubstanz etwas, aber nicht so stark wie bei *a*.

d) 4$^0/_0$ige und 5$^0/_0$ige Formol- (Formaldehyd-) Lösung in 0,75$^0/_0$iger Kochsalzlösung. Später Alkoholhärtung und Konservirung in Alk. absol. Das Gewebe der Elektroplaxe fixirt sich schlecht, weil eine sehr starke Schrumpfung der Plattensubstanz eintritt. Dagegen werden die Gallertsubstanz und das Bindegewebsgerüst des Organs besser konservirt.

e) 0,5—1$^0/_0$ige Osmiumsäure. Einwirkung auf kleine Organstückchen während 24 Stunden, sodann nach Wasserspülung Ueberführung in Mixtur (siehe oben) für Zupfpräparate, in Alkohol für Schnittpräparate. Die Osmiumsäure bewirkt eine Plattenschrumpfung. Die gekörnten Fadenbildungen treten in der geschrumpften Platte sehr deutlich hervor.

f) Schwache FLEMMING'sche Lösung (siehe oben), Nachbehandlung wie bei *e*. Die Stücke können auch längere Zeit in der Lösung selbst verbleiben. Auch in diesem Reagens tritt eine Plattenschrumpfung ein, jedoch nicht in dem Grade wie in Formol. Die Stäbchen und die Punktirung werden deutlich.

(Nach OGNEFF ist die HERMANN'sche Flüssigkeit [siehe oben] zur Fixirung des Malopterurusorgans völlig unbrauchbar, weil sie die elektrischen Platten bis zur Unkenntlichkeit zusammenschrumpft und entstellt.)

2. Imprägnation.

a) Goldchlorid. Kleine Organstücke werden bis 10 Minuten mit 25%iger Ameisensäure behandelt und kommen sodann in 1%ige Goldchloridlösung. Reduktion in 50%iger Ameisensäure oder in 1%iger Essigsäure am Licht. Für Zupfpräparate in Mixtur (siehe oben), für Schnittpräparate in Alkohol. Nur die feineren Nerven imprägniren sich, die Nervenendigungen werden indessen nicht deutlich, da Endknopf und Trichterstiel, welche zugleich bei dieser Behandlung etwas schrumpfen, eine violette Färbung annehmen.

b) Imprägnation nach GOLGI. Schnelles Verfahren nach RAMÓN-Y-CAJAL. Gelingt bei Malopterurus nicht immer. Es inkrustiren sich nur die feineren Nervenverästelungen mit den Nervenendigungen am Endknopf des Trichterstieles. Dagegen bleiben alle Plattenstrukturen ungefärbt, insbesondere auch die Stäbchen. Ausserdem kommen die Gefässnerven zur Darstellung.

3. Färbung.

Hämatoxylinlösungen sind dem Karmin vorzuziehen. Besonders empfehlenswerth ist die Färbung mit Eisenalaunhämatoxylin nach M. HEIDENHAIN. Nachfärbung mit Eosin wirkt sehr günstig. Auch die Färbung mit stark tingirenden Anilinfarben mit nachfolgender Untersuchung in Wasser liefert werthvolle Resultate (siehe oben bei Torpedo).

4. Isolirung.

a) Für die Isolirung der Platten leistet die MÜLLER'sche Flüssigkeit vorzügliche Dienste. Kleine Organstücke kommen auf längere Zeit in ein nicht zu grosses Quantum der Flüssigkeit. Nach einiger Zeit lassen sich dann die Platten durch Zerzupfen isoliren, da das Bindegewebe des Organs weich, nachgiebig und gelockert ist, zum Theil sich auch wohl aufgelöst hat. Vor dem Zerzupfen muss mit einer feinen Scheere die Cutis und innere Organhülle von dem Stücke abgelöst werden. Die Form der Elektroplaxe von Malopterurus bleibt in MÜLLER'scher Lösung vorzüglich erhalten; dabei bewahrt die Substanz der Platten ihre Weichheit, so dass die Platten nicht zerbrechen, wenn sie nicht bei dem Zerzupfen gerade zerrissen werden. Schon BABUCHIN erwähnt, dass Kalium bichromicum bei Malopterurus nicht schrumpfend wirkt und die Plattenform gut erhält.

Die isolirten Platten werden sodann in Aqua destillata abgespült und mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt. Einschluss in Balsam.

Bei der Behandlung mit MÜLLER'scher Lösung bleibt auch von der feineren Struktur der Plattensubstanz mancherlei, z. B. die gekörnten Fäden, die Stäbchen u. a., wenn nicht gut, so doch meist deutlich sichtbar erhalten.

b) Längeres Liegen kleiner Organstücke in gesättigter, wässeriger Pikrinsäurelösung erweicht das Bindegewebe, so dass die Platten sich leicht trennen. Die Stücke zerfallen alsdann bei dem Zerzupfen in eine grosse Zahl isolirter Platten. Die letzteren sind etwas geschrumpft und

spröde, zerbrechen daher leichter als in den Präparaten aus MÜLLER'scher Lösung, in welcher sie mehr weich und biegsam bleiben. Auch gelingt die Färbung in den mit Pikrinsäure behandelten Präparaten nicht mehr gut.

a) Nach M. SCHULTZE hat auch bei Malopterurus längeres mehrstündiges Kochen den Erfolg, dass nach Auflösung aller bindegewebigen Scheidewände und Hüllen die elektrischen Platten allein und nur durch Blutgefässe und Nervenfädchen noch untereinander zusammenhängend dargestellt werden können. Das Kochen in Wasser ist nach M. SCHULTZE das beste Mittel, die elektrischen Platten ohne Verletzung zu isoliren, sie bleiben durchsichtig, wenn auch die Grundsubstanz körnig gerinnt; freilich wird die feinere Struktur dadurch zerstört. Auch an Spirituspräparaten lässt sich nach vorherigem Auswässern das Kochen in Wasser zur Isolirung der Platten mit Vortheil anwenden, während in Chromsäurelösung und solcher von doppelchromsaurem Kali die Bindegewebsgebilde Veränderungen eingehen, welche ihre spätere Löslichkeit beeinträchtigen.

Schwach elektrische Organe.

IV. Raja-Arten. Genus Raja und Laeviraja.

Das elektrische Organ der Raja-Arten liegt in dem dünnen Schwanze der Fische zu jeder Seite der Wirbelsäule und besitzt eine lang ausgezogene Spindelform. Man legt es frei, indem man die derbe Haut längs der Wirbelsäule in der Mittellinie spaltet und von der Oberfläche des Organs vorsichtig abpräparirt.

1. Fixirung.

Zur Fixirung eignen sich:

a) Koncentrirte Sublimatlösung in 0,6%iger Kochsalzlösung.

b) Eisessigsublimat (5 Theile Eisessig auf 100 Theile koncentrirte wässerige Sublimatlösung).

c) Schwache FLEMMING'sche Lösung (siehe oben).

d) Chromessigsäure.

Osmiumsäure ist weniger geeignet, weil sie ein Schrumpfen der kuchenförmigen Platte verursacht.

G. RETZIUS hat bei Raja radiata auch $^1/_2$%ige Chromsäure und Kalium bichromicum-Formolmischung benutzt.

2. Imprägnation.

a) Die Goldbehandlung bietet bei Raja nicht viel, vor allem gelingt damit keine gute Färbung der Nervenendigungen.

b) Die GOLGI'sche Methode (schnelles Verfahren nach RAMÓN-Y-CAJAL siehe oben) findet bei dem Rochenorgan eine vielseitige Anwendung. Durch dieses Verfahren können manche sonst schwer nachweisbare Strukturen mit grosser Prägnanz dargestellt werden. So lassen sich die feinfädige Struktur der vorderen Rindensubstanz und die Netzfäden innerhalb der lamellären Schicht durch keine andere Methode so deutlich zur Anschauung bringen. Ausserdem inkrustiren sich die feineren Nerven, die Nervenendigungen und die damit in Beziehung stehenden Netze sowie die elektrischen Stäbchen.

3. Färbung.

Die Doppelfärbung mit Hämatoxylin (nach BÖHMER, DELAFIELD u. a.) und Eosin giebt sehr instruktive Uebersichtsbilder, da durch sie die Substanz der Elektroplaxen roth, das Gallertgewebe und Bindegewebsgerüst hingegen bläulich gefärbt werden.

Färbung dünner Schnitte mit intensiv färbenden Anilinfarben (Gentianaviolett, Dahlia, Saffranin, Toluidin, Säurefuchsin, Biondi'scher Flüssigkeit u. a.) mit nachfolgender Untersuchung in Wasser bietet gleichfalls für manche Strukturen Vortheile. So färben sich in Sublimatpräparaten von Raja clavata mit Säurefuchsin die Stäbchen.

G. Retzius erhielt bei Raja radiata die besten Tinktionen mit kombinirter Toluidin- und Säurefuchsinfärbung oder mit Säurefuchsin allein, und zwar vor allem an dem in Flemming'scher Lösung fixirten Material; gute Präparate erhielt er auch von dem in derselben Weise gefärbten, in Sublimat gehärteten Gewebe.

4. Vitale Methylenblaufärbung.

Die vitale Methylenblaufärbung ist von G. Retzius für die Färbung der Nervenendigungen mit Erfolg bei Raja clavata und Raja radiata ausgeführt worden. Die Methylenblaulösung wird dem noch lebenden oder eben getödteten Thiere entweder ins Blutgefässsystem oder mittels Stichinjektion interstitiell in das elektrische Organ beigebracht. Die scharfe Färbung tritt erst ein nach vorsichtiger Zerzupfung des Organs unter der Lupe und nach dem Zutritt der Luft zu dem Gewebe.

5. Isolirung.

a) Für Zupfpräparate ist das mit Osmiumsäure, Flemming'scher Lösung, Müller'scher Flüssigkeit und Kalium bichromicum (2—5%) behandelte Material geeignet. Die Aufbewahrung der mit Osmium und Flemming-scher Lösung behandelten Stücke geschieht nach Wasserspülung wieder in Mixtur (siehe oben). Das Osmiummaterial kann nach Wasserspülung auch in 3%ige Lösung von Kalium bichromicum gethan werden.

b) Wenn es nur darauf ankommt, die Form der Elektroplaxe von Raja, die bei den Arten nach dem Vorhandensein und der Ausbildung eines hinteren Schwanzanhanges variirt, isolirt zur Anschauung zu bringen ohne Berücksichtigung der feineren Struktur, redet M. Schultze dem Aufkochen das Wort. Aufkochen in Wasser macht die im frischen Zustande und bei Betrachtung mit blossem Auge fast ganz durchsichtig erscheinenden Elektroplaxe undurchsichtig und weiss wie geronnenes Eiweiss. Das Gewebe derselben verdichtet sich, schrumpft etwas ein und wird härter. Das angrenzende Gallertgewebe, welches die hintere Hälfte des Faches ausfüllt, ist dagegen ganz durchsichtig geblieben. Nach 4—6stündigem Kochen eines Stückes des Rajaorgans ist im Gewebe der Elektroplaxe eine wesentliche Veränderung nicht weiter eingetreten. Schon nach 2stündigem Kochen beginnt das Bindegewebe der Scheidewände sich zu lösen, und bald fällt das ganze Organ in lauter einzelne Blättchen auseinander, welche aus den meist ziemlich gut erhaltenen Nervenausbreitungen und den angehörigen Elektroplaxen bestehen, die sich auf diese Art von allem angrenzenden Bindegewebe vollständig isoliren lassen. Von den Zellen der Platten sind nur noch die Kerne sichtbar, während sich die wellige Streifung der intermediären Schicht erhält. Beim Kochen in verdünnter Essigsäure löst sich das Bindegewebe viel schneller, die Platten mit den Nerven bleiben nach M. Schultze aber auch dann ungelöst zurück.

c) Zur Isolirung der sich aus Muskelfasern entwickelnden Elektroplaxe aus dem elektrischen Organ von Raja-Embryonen benutzte Ewart Acidum nitricum (Koncentration nicht angegeben).

V. Mormyriden, »Nilhechte«.

Diese interessante Fischgruppe ist neuerdings von Ogneff nach neueren Methoden auf den Bau ihrer elektrischen Organe untersucht worden, und

machte dieser Forscher hinsichtlich der Untersuchungsmethodik folgende Erfahrungen:

1. Fixirung.

Besonders geeignet erwiesen sich für die Fixirung der Elektroplaxe der Mormyriden 1–$1\frac{1}{2}$%ige Osmiumsäure, Sublimat und Hermann'sche Flüssigkeit. Das Material wurde zum Theil zerzupft, zum Theil gehärtet und geschnitten.

Besondere Schwierigkeit macht die Fixirung der quergestreiften Muskelsubstanz innerhalb der Elektroplaxe. Auf die Ursache der Schwierigkeit, diese Streifung wahrzunehmen und die Muskeln zu untersuchen, hat schon Babuchin hingewiesen. Sehr bald nach der Tödtung des Fisches, möglicherweise, wie Ogneff scheint, noch während er am Leben ist, beginnt bei der erhöhten Thätigkeit der elektrischen Organe während des Tödtungsprocesses und des Präparirens des Fisches eine eigenthümliche Veränderung in den Muskelfasern, welche Babuchin eine Gerinnung derselben nennt. Letztere Erscheinung besteht darin, dass die Querstreifung verschwindet und die Fasern sich in wurstförmige, manchmal unregelmässig gebogene Körper verwandeln. Die Osmiumsäure schien Ogneff nicht geeignet zur Fixirung dieser Muskellage. Bessere Resultate ergab die Anwendung der Hermann-schen Flüssigkeit. Um mittels derselben ein gutes Präparat zu erhalten, muss man den Fisch, ohne ihn anzurühren, in einer Schüssel mit Wasser sterben lassen. In diesem Falle bleibt die Streifung sogar an Weingeistexemplaren sichtbar.

2. Imprägnation.

a) Goldbehandlung. Die Imprägnation mit Gold mittels Goldchloridkaliums und Reduktion in einer schwachen Lösung von Kaliumbichromat und auch nach anderen Methoden hat Ogneff keine besonderen Resultate ergeben, wenigstens keine solchen, die nicht auch auf andere Weise hätten erreicht werden können.

b) Vermittelst der Golgi'schen Methode (schnelles Verfahren, siehe oben Torpedo) gelingt es bei den Mormyriden nach Ogneff verhältnissmässig leicht, die Verzweigungen der blassen Fasern bis zu den Endverzweigungen mit Silber zu imprägniren, doch bleibt die Imprägnation immer an der hinteren Fläche der Platte stehen und geht nicht weiter als die hinteren Stäbchen. Bei den Mormyriden gelang es Ogneff niemals, Stäbchen zu imprägniren (vergleiche oben Gymnotus und Malopterurus), was bei Torpedo und Raja, wie der Unterzeichnete zuerst gezeigt hat, verhältnissmässig leicht gelingt.

3. Färbung.

Zur Färbung benutzte Ogneff Hämatoxylin nach Delafield, Mayer's Hämalaun, die Biondi'sche Mischung und Safranin. Die mit Osmiumsäure und Hermann'scher Flüssigkeit behandelten Präparate gewannen durch die Tinktion nicht viel, da sie schon durch die Osmiumsäure eine genügend dunkle Färbung erhalten hatten.

Litteratur: Babuchin (Centr. med. Wiss., 1870), derselbe (ebenda, 1872), derselbe (ebenda, 1875), derselbe (Arch. Phys., 1877), derselbe (Centr. med. Wiss., 1882). Ballowitz (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), derselbe (Anat. Hefte, Heft 23, 1897), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), derselbe (Das elektrische Organ des afrikanischen Zitterwelses, Jena 1899), Boll (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), derselbe (ebenda), derselbe (Arch. Anat. Phys., 1876), Ciaccio (Mem. R. Akad. Sc. Bologna, III, Bd. 8, 1877), Crevatin (Saggio di osservazioni sugli organi elettrici, Mantova 1897?), Ewald (Habilitationsschrift, Heidelberg 1881, auch Untersuch. phys. Inst. Heidelberg, Bd. 4, Ewart (Phil. Trans., Bd. 179, 1889), derselbe (ebenda), derselbe (ebenda, Bd. 183,

1893), Iwanzoff (Bull. Soc. Natural. Moscou, 1894), derselbe (ebenda, 1895), W. Krause (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 3, 1886), derselbe (ebenda, Bd. 4, 1887), derselbe (ebenda, Bd. 8, 1891), Ogneff (Arch. Phys., 1897), derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 64, 1898), Ranvier (Leçons sur l'histologie du système nerveux, Paris 1878), derselbe (Technisches Lehrbuch), Retzius (Biol. Unter., N. F., Bd. 8, 1898), Schultze (Abh. Naturf. Ges. Halle, Bd. 4, 1858), derselbe (ebenda, Bd. 5, 1860), derselbe (Arch. Anat. Phys., 1858).

Ballowitz, Greifswald.

Elodea siehe Plasmaströmung.

Embryologische Technik. Die embryologische Technik umfasst alle Methoden, welche embryologisches Material für die wissenschaftliche Untersuchung vorbereiten und geeignet machen. Sie zerfällt in die folgenden Kapitel:

1. Künstliche Befruchtung,
2. Beobachtung des lebenden Objekts,
3. Präparation der Eier und Embryonen,
4. Fixirung und Härtung,
5. Färbung,
6. Einbettungs-, Schneide- und Aufklebetechnik.

Hiezu kommen dann noch:

7. Rekonstruktion der Embryonen nach Serienschnitten,
8. Experimentelle und operative (sogenannte entwicklungsmechanische) Methoden.

In der folgenden Bearbeitung werden nur Kapitel 1—6 in einem allgemeinen und einem speciellen Theile hinsichtlich der Wirbelthiere berücksichtigt, da Kapitel 7 und 8 an anderer Stelle dieser Encyklopädie besonders behandelt sind (siehe Rekonstruktion und experimentell embryologische Methoden. Auch können für die Beschaffung des embryologischen Materials (Aufsuchen, Haltung und Züchtung der Mutterthiere, Anlegung von Thierzuchten, Aufsuchen und Fischen der Eier und Embryonen, künstliche Fischzucht, künstliche Eierausbrütung) hier keine Winke gegeben werden.

Für die Behandlung des embryologischen Materials gelten im allgemeinen die gleichen Grundsätze und Regeln, welche sich für die makroskopische und mikroskopische Untersuchungstechnik des ausgebildeten Wirbelthierkörpers bewährt haben, nur dass die Methoden der Eigenart des embryonalen Gewebes angepasst sind und dadurch mancherlei Modifikationen erlitten haben, deren Zweckmässigkeit die Erfahrung gelehrt hat.

In dem allgemeinen Theile sollen die allgemeinen Gesichtspunkte und die allgemein giltigen Methoden dargelegt werden. In dem speciellen Theile wird die embryologische Technik nach den einzelnen Klassen und Ordnungen der Wirbelthiere abgehandelt. Dabei können nur die Methoden berücksichtigt werden, welche sich bewährt und allgemeinere Verbreitung und Anerkennung gefunden haben.

I. Allgemeiner Theil.

In allgemeinen Zügen charakterisirt, ist der Gang der embryologischen Untersuchung folgender:

Wenn möglich, sind die Keimscheiben und Embryonen, die eventuell durch künstliche Befruchtung gewonnen werden, zunächst lebend unter einer guten Lupe oder schwachen mikroskopischen Vergrösserungen zu studiren. Derartige Objekte eignen sich für experimentelle und operative entwicklungsmechanische Versuche.

Das lebensfrische Objekt wird sodann fixirt und gehärtet.

Nach der Fixirung sind die Keimscheiben und Embryonen wiederum unter einer nicht zu starken Lupe oder bei schwächeren mikroskopischen Vergrösserungen eingehend zu betrachten, zu messen und zu zeichnen, even-

tuell zu photographiren, die Keimscheiben nicht allein von der Oberseite, sondern, wenn möglich, auch von der Unterseite. Diese Untersuchung wird am besten in einer flachen Schale mit Alkohol auf einer dunklen Unterlage bei auffallendem Lichte, und wenn es das Objekt gestattet, auch bei durchfallendem Lichte vorgenommen. Das auffallende Licht muss hinreichend stark, am besten kondensirt sein, eventuell künstliches Licht oder direkte Sonnenbeleuchtung, auch muss das Objekt unter dieser Beleuchtung in verschiedenen Stellungen und Lagen studirt werden, wenn es darauf ankommt, feinere Reliefverhältnisse oder Bildungen der Oberfläche zu erkennen, die nicht selten erst sichtbar werden, wenn die betreffende Keimscheibe oder der Embryo in einer ganz bestimmten Stellung bei guter Beleuchtung betrachtet wird.

Ein jedes Objekt wird mit genauer Bezeichnung und einer fortlaufenden Nummer versehen, welche mit der Nummer des Untersuchungsprotokolles übereinstimmt.

Hieran kann sich, wenn das Objekt geeignet ist, die Färbung in toto anschliessen.

An dem in toto gefärbten Objekt ist dann die Untersuchung bei auffallendem Licht in der oben angegebenen Weise zu wiederholen, weil nach der Tinktion oft Dinge sichtbar werden, die vorher nicht erkannt werden konnten. Auch empfiehlt es sich, die gefärbten Keimscheiben und Embryonen, falls sie diese Behandlung vertragen, aufzuhellen und dann in dem aufhellenden Medium bei durchfallendem Lichte zu studiren. Sollen die Objekte nicht geschnitten werden, so ist es besser, sie sogleich in Balsam einzuschliessen, mit einem Deckgläschen, das durch Wachsfüsschen, Glassplitter, Glaszelle oder dergl. Schutzvorrichtungen gestützt werden muss, zu bedecken und die Untersuchung mit durchfallendem Licht erst dann an dem Balsampräparat vorzunehmen. Aber auch diese Präparate können durch Auflösung des Balsams in Xylol auch später noch jederzeit herausgenommen und zum Schneiden eingebettet werden.

Die in toto gefärbten, respektive die ungefärbten Objekte werden sodann in Paraffin eingebettet, um mit dem Mikrotom in lückenlose Serien zerlegt zu werden, deren einzelne Schnitte der Reihe nach auf Objektträgern aufgeklebt, und falls sie noch nicht gefärbt sind, alsdann auf dem Objektträger gefärbt werden. Als Schnittdicke ist nach der Eigenart des Objektes eine solche von 5—20 μ in der Mehrzahl der Fälle von 10 μ zu wählen. Nach dem definitiven Einschluss der Serien in Balsam folgt dann das genaue Studium der Serienschnitte unter dem Mikroskop mit Zeichnung der wichtigeren Schnittbilder. Bei schwieriger verständlichen Bildungen und komplicirten Entwicklungsvorgängen ist die plastische Rekonstruktion nach den Serienschnitten vorzunehmen.

Bei älteren Embryonen kann es schliesslich geboten sein, zum Studium der Organogenese die Embryonen zu eröffnen und die einzelnen Organe mit Nadeln und anderen feinen Instrumenten herauszupräpariren.

1. Künstliche Befruchtung.

Unter künstlicher Befruchtung versteht man die durch Menschenhand ausgeführte Besamung und Befruchtung der Eier. Sie ist bis jetzt nur bei Fischen (z. B. Amphioxus, Cyclostomen, Knochenfischen) und Amphibien geglückt (siehe diese im speciellen Theil), lässt sich hier aber sehr leicht ausführen und giebt ein bequemes Mittel an die Hand, um sich in den Besitz der frühesten Entwicklungsstadien bei den genannten Thieren zu setzen.

2. Beobachtung des lebenden Objektes.

Bei manchen Vertebraten, deren Eier sich ausserhalb des mütterlichen Organismus entwickeln, lässt sich die Entwicklung unter der Lupe

oder dem Mikroskope wenigstens eine Zeit lang verfolgen. Voraussetzung hierfür ist, dass die Eier und Embryonen unter den natürlichen Verhältnissen möglichst entsprechenden Bedingungen untersucht werden. Diese Objekte eignen sich naturgemäss in erster Linie für entwicklungsmechanische Experimente. Hierher gehören die Eier und Embryonen von Amphioxus, Fischen, Amphibien und Vögeln (siehe diese im speciellen Theil).

Bei der Beobachtung der Entwicklungsvorgänge an undurchsichtigen Eiern empfiehlt es sich nach dem Vorgange von Pflüger, das Uhrschälchen, welches das zu beobachtende Ei enthält, auf die unbelegte Seite einer dicken Spiegelplatte zu stellen und bei auffallendem Lichte zu untersuchen. Alsdann kann man auch die Entwicklungsvorgänge an der nach unten gewandten Eihälfte im Spiegelbilde beobachten, ohne die Lage des Eies zu verändern.

3. Präparation der Eier und Embryonen.

Da das embryonale Gewebe sehr zart ist, können die Embryonen bei der Präparation auch schon durch ganz geringfügige Insulte verletzt und unbrauchbar gemacht werden. Die Freilegung der Eier und Embryonen muss daher mit grösster Vorsicht ausgeführt werden. Am besten und schonendsten findet die Präparation unter Flüssigkeiten statt, seien es nun indifferente, sogenannte physiologische Flüssigkeiten oder Fixirungsmittel. Es ist nicht überflüssig zu betonen, dass bei der Präparation kleinerer Embryonen auch die Instrumente (Messer, feine Scheeren, auch über die Fläche gebogene, sogenannte Cooper'sche Scheeren, Nadeln) entsprechend fein und scharf schneidend sein müssen; von Pincetten empfehlen sich vor allem die mit ganz feinen, spitzen, sicher fassenden Branchen versehenen. Auch ist es oft geboten, bei Präparation an frischen zarten Embryonalhäuten ganz glatt polirte Instrumente zu gebrauchen, da die ersteren leicht an den Instrumenten ankleben. Auch gehören feinste, weiche Marderpinsel zu den für den Embryologen unentbehrlichen Instrumenten. Hauptsache bleibt natürlich bei allen diesen Manipulationen eine geschickte Hand.

4. Fixirung und Härtung.

Für die Fixirung ist in erster Linie als Hauptregel aufzustellen, dass die Embryonen ganz lebensfrisch in die Fixirungsflüssigkeit gelegt werden; sie müssen daher, wenn es nur irgend angeht, aus dem frisch getödteten Mutterthier sofort herausgeschnitten werden. Da besonders die jungen Embryonen sehr zart sind und in der Mutter meist von einem blutreichen, sich leicht zersetzenden Gewebe umlagert werden, maceriren die Embryonen sehr leicht und werden oft schon in wenigen Stunden innerhalb der Mutter für wissenschaftliche Untersuchungen völlig unbrauchbar. Besonders gilt dies für erlegtes Mutterwild, Wiederkäuer und andere Säugethiere, zumal in heissen Klimaten.

Aber auch für kaltblütige Thiere ist dies gewöhnlich zutreffend. So erwähnt z. B. Voeltzkow von den Krokodileiern, dass die Eier in den getödteten Thieren ungemein rasch verderben. Voeltzkow war daher auf Madagaskar gezwungen, die gefangenen Krokodile gefesselt und lebendig nach seiner Wohnung tragen zu lassen, um dort die Eier herauszuschneiden und sofort zu konserviren. Erwähnenswerth ist auch das Verfahren, welches Voeltzkow einschlug, um sich verschiedene Stadien zu verschaffen, da die sämmtlichen Eier eines Krokodilweibchens (wie auch bei anderen Reptilien) sich stets auf derselben Entwicklungsstufe befinden. Voeltzkow liess die trächtigen Krokodile in geeigneter Rückenlage auf einem Baumstamm festschnüren, öffnete die Bauchhöhle durch einen kurzen Schnitt, der gerade zur Einführung der Hand genügte und entnahm dem Eileiter alle paar Stunden eine Reihe von Eiern. Dann wurde die Wunde gewaschen und ver-

bunden und mit Karbollappen bedeckt, so dass es gelang, die Thiere noch zwei Tage am Leben zu erhalten. Auch bei Säugethieren ist dies Verfahren schon in Anwendung gebracht worden.

Die lebensfrisch gewonnenen Embryonen, respektive die Eier kommen in ein reichliches Quantum der Fixirungsflüssigkeit, welches nach Bedarf (vor allem bei grösseren Embryonen) des öfteren gewechselt werden muss. Erforderlichenfalls kann die Fixirungsflüssigkeit vor dem Einlegen des Embryo auch injicirt werden. Am besten nimmt man die Fixirung in flachen Schalen vor, in denen man bequem die Lage der Embryonen reguliren und die Stücke umlegen kann, damit die Fixirungsflüssigkeit möglichst gleichmässig von allen Seiten hinzutreten und eindringen kann. Der Boden der Schale sei mit einer dünnen Schicht guter Baumwolle (Watte) belegt, um das Plattliegen der Eier und Embryonen zu verhüten. Auch ist darauf zu achten, dass die Stücke sich nicht berühren; jedes Stück muss isolirt liegen und in seiner Lage eventuell durch Wattepolster, respektive Lockerung der Watteunterlage unterstützt werden.

Nach genügender Fixirung werden die Embryonen in Alkohol gehärtet. Die Alkoholhärtung muss allmählich vorgenommen werden, um eine sonst leicht eintretende Schrumpfung zu vermeiden. Die für die Härtung (durch Wasserspülung u. s. w., siehe Fixirungsmittel) vorbereiteten Eier und Embryonen kommen zuerst in eine ganz dünne Alkohollösung von 30%, eventuell auch noch schwächer, verbleiben darin je nach der Grösse der Stücke einige bis mehrere Stunden, werden dann in stärkeren Alkohol von 40% übergeführt, um darin wieder einige Zeit zu liegen, bis sie völlig davon durchdrungen sind, u. s. w. bis zum 90%igen oder absoluten Alkohol. Meist wird es genügen, wenn man 30-, 40-, 50-, 70- und 90%igen Alkohol nimmt; bei ganz zarten Objekten ist es rathsam, auch noch die Zwischenstufen zu nehmen und mit dünnerem Alkohol anzufangen. Bei derberen Objekten kann man schon mit 70%igem Alkohol die Härtung beginnen.

Da es nicht gut ist, die Embryonen bei dem Wechseln der Flüssigkeit herauszunehmen, wobei sehr leicht Verletzungen stattfinden können, habe ich die zu wechselnden Flüssigkeiten aus den Schalen stets mit einer dünnen Glasspritze herausgesogen und dann die neue Flüssigkeit vorsichtig hinzugegossen. Bei diesem Verfahren bleiben die Embryonen in der ihnen von vornherein gegebenen zweckmässigen Lage und werden darin fixirt und auch gehärtet.

Bei dotterreichen Eiern muss man mit starkem Alkohol vorsichtig sein, da derselbe den Dotter brüchig und zum Schneiden unbrauchbar macht. Dotterreiche Eier bewahrt man daher am besten in 70—80%igem Alkohol auf und setzt sie der Einwirkung starker Alkohollösungen möglichst kurze Zeit aus. Ueberhaupt ist es nicht gut, Embryonen in sehr starkem Alkohol lange aufzubewahren, 80—90%iger genügt hierzu. Schliesslich ist zu rathen, das konservirte embryologische Material möglichst bald aufzuarbeiten, da es durch jahrelanges Liegen an seiner Brauchbarkeit leidet.

Zur Fixirung der Eier und Embryonen der Vertebraten sind sehr viele Reagentien empfohlen und erprobt worden. Ihre Zweckmässigkeit hat bei den einzelnen Objekten die Erfahrung gelehrt. Um Wiederholungen im speciellen Theil zu vermeiden, ist es geboten, diejenigen Lösungen, welche sich bewährt haben, hier zusammenzustellen; ich werde dann im speciellen Theil nur nöthig haben, die Reagentien und Kompositionen einfach zu nennen; das Nähere über ihre Zusammensetzung und Anwendung findet sich in diesem Kapitel. Um etwas Uebersichtlichkeit in diese Zusammenstellung zu bringen, habe ich die zahlreichen Fixirungsflüssigkeiten jedesmal nach einem charakteristischen, wesentlichen, darin enthaltenen Bestandtheil gruppirt.

Danach sind die folgenden Gruppen zu unterscheiden:

a) Osmiumsäure und osmiumhaltige Flüssigkeiten,

b) Chromsäure, Chromsäuresalze und Chromsäure, respektive Chromate enthaltende Flüssigkeiten,

c) Sublimat oder sublimathaltige Kompositionen,

d) Pikrinsäure und pikrinsäurehaltige Kompositionen.

e) Salpetersäure.

f) Essigsäure.

g) Platinchlorid.

h) Alkohol.

i) Formol und formolhaltige Kompositionen.

a) Osmiumsäure und osmiumhaltige Flüssigkeiten.

Diese Reagentien eignen sich nur zur Fixirung kleinerer Objekte, denn die Osmiumsäure dringt schwer ein. Da die Säure eine leichte Schrumpfung der Zellen hervorruft, lässt sie die Zellgrenzen, ferner die Spalten zwischen den Keimblättern und die sich bildenden Kanäle und Hohlräume gut hervortreten. Sie eignet sich daher als Zusatz zu solchen Reagentien, durch deren Einwirkung allein die Zellgrenzen verwischt werden. (Siehe z. B. KLEINENBERG'sche Flüssigkeit.) Zu betonen ist schliesslich, dass sie fettige Substanzen, also auch die Dottertröpfchen der Eier schwärzt. Ebenso schwärzt sie die Marksubstanz der markhaltigen Nerven, ist demnach von Bedeutung für das Studium der Entwicklung des Nervensystems.

a) 1. Osmiumsäure.

Wird gewöhnlich in 0,5—2%iger wässeriger Lösung angewandt. Dringt schwer ein, besonders in fetthaltige Substanzen (dotterhaltige Eier). Je nach der Grösse der Objekte, die nur klein sein dürfen, bleiben diese im Dunkeln einige Stunden bis mehrere Tage in dem Reagens. Sodann Wasserspülung und Alkoholhärtung. Die Totalfärbung mit Hämatoxylin u. a. wird am besten vor der Alkoholhärtung vorgenommen. Zur Färbung des frischen Objektes empfiehlt MAYER das Methylgrün.

Zur Fixirung kleinerer Eier, Furchungen u. s. w. empfiehlt sich auch die Fixirung durch Osmiumdämpfe. Etwas Osminiumsäurelösung wird in ein Schälchen gegossen. das zu fixirende Objekt legt man dann auf einem Objektträger im hängenden Tropfen darüber.

a) 2. FLEMMING'sche Lösung. Chromosmiumessigsäure.

Im Gebrauch sind:

a) 2. *a)* Eine schwache Lösung: Chromsäure 2½ Grm., Osmiumsäure 1 Grm., Eisessig 1 Grm., Wasser 1000 Grm.

a) 2. *b)* Eine starke Lösung: 2%ige Osmiumsäure 4 Vol., 1%ige Chromsäure 15 Vol., Eisessig 1 Vol.

Die beiden Lösungen werden am besten jedesmal vor dem Gebrauch frisch hergestellt.

Da die Lösungen schwer eindringen, eignen sie sich nur für kleine Eier und kleine Embryonen, die darin einige Stunden bis Tage (ja sogar Wochen und Monate) verbleiben. Nach der Einwirkung sorgfältiges Auswaschen in Wasser. Färbung entweder (nach MAYER) in toto mit Hämateïnthonerde oder besser noch der Schnitte mit Safranin, Eisenhämatoxylin u. a.

a) 3. HERMANN's Gemisch, Platinosmiumessigsäure.

In ihm ist die Chromsäure der starken FLEMMING'schen Lösung durch 1%ige Platinchloridlösung ersetzt: 15 Theile 1%iger Platinchloridlösung,

4 Theile oder weniger 2%iger Osmiumsäure, 1 Theil Eisessig. Nachbehandlung und Tinktion wie bei den FLEMMING'schen Gemischen.

a) 1. Osmium-Pikrinsäure-Platinchlorid-Essigsäure (VOM RATH). 200 Ccm. gesättigter Lösung von Pikrinsäure, 1 Grm. Platinchlorid (in 10 Ccm. Wasser gelöst), 2 Ccm. Eisessig, 12, resp. 25 Ccm. einer 2%igen Lösung von Osmiumsäure. (Die Osmiumsäure kann auch fortgelassen werden.)

b) Chromsäure, Chromsäuresalze und Chromsäure, resp. Chromate enthaltende Flüssigkeiten.

Durch Einwirkung der Chromsäure und der chromsauren Salze nehmen die Keimscheiben und die Embryonen eine in verschiedenen Nuancen auftretende, mattbraune bis grüne Färbung an, die bei längerem Aufenthalt in Alkohol aber in ein mehr gleichmässiges Hellgrün übergeht. Frisch chromirte Keimscheiben und Embryonen eignen sich daher für das Studium der Oberflächenbilder mehr als bei anderer Behandlung. MEHNERT empfiehlt, die durch Alkoholeinwirkung hellgrün gewordenen Embryonen wieder auf einige Stunden in $^1/_2$%ige Chromsäure zu legen, nach welcher Behandlung die Oberflächenzeichnung wieder auf das schärfste hervortritt.

b) 1. Chromsäure.

Wird zur Fixirung und Härtung verwendet in 0,1—1%igen (meist wohl in $^1/_2$%igen) wässerigen Lösungen, worin die Objekte je nach der Grösse mehrere Tage bis Wochen verbleiben; es ist ein grosses Quantum der Lösung zu nehmen und nach Bedarf zu erneuern.

Chromsäure und Alkohol zersetzen sich in ganz kurzer Zeit gegenseitig; alkoholische Chromsäurelösungen sind daher stets unmittelbar vor dem Gebrauch anzufertigen.

Die Objekte müssen nach der Chromsäurebehandlung durch längere Wasserspülungen von der Chromsäure möglichst befreit werden. Die Wasserspülung lässt sich umgehen, wenn man (nach H. VIRCHOW's Vorschrift) die mit Chromsäure (und Chromsäuresalzen) behandelten Stücke sogleich in Alkohol überführt und im Dunkeln aufbewahrt; der gelbwerdende Alkohol ist öfter zu wechseln. Hierdurch wird auch die Bildung von Niederschlägen in den Objekten verhindert.

Ein grosser Mangel der Chromsäurebehandlung embryologischen Materials ist, dass die Kernfärbung nach derselben nur ungenügend oder gar nicht mehr zu erzielen ist. Um das Chromsäurematerial wieder fähig zu machen, die gewöhnliche Kerntinktion anzunehmen, schlägt MAYER vor, die Stücke nach der Alkoholbehandlung entweder in verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. auf 20 Vol. Wasser) oder Salpetersäure (1 : 10) zu bringen; hierin werden sie in längstens einigen Stunden hell graugrün und färben sich nach Entfernung der Säure gut durch. Die aufgeklebten Schnitte von Chromsäurematerial behandelt man nach MAYER zu dem gleichen Zwecke einfach mit dem gebräuchlichen salzsauren Alkohol; sie werden in kurzer Zeit fast weiss und färben sich dann nach der Entsäuerung mit den gewöhnlichen Färbemitteln.

E. BURCHARDT hat zur Färbung der Chromsäurepräparate Holzessigfarben angegeben. (Vergl. Artikel Holzessigfarben.) VOELTZKOW hat diese Holzessigfarben zur Tinktion von mit Chromsäure fixirten Embryonen auch für ganz alte, dunkelgrüne Chromsäurepräparate unter folgender Modifikation mit Erfolg angewandt. Man suche sich ungereinigten Holzessig von möglichst klarer, etwas gelblicher Farbe zu verschaffen und koche darin eine Menge besten

Karmin im Ueberschuss bei kleiner Flamme stundenlang, so dass die Flüssigkeit nur gerade kocht, bis sie eine tiefdunkle, ölige Farbe angenommen hat, und filtrire dann. Dauer der Durchfärbung je nach Grösse des Objekts; bei kleineren genügen 1—2 Stunden, grössere Objekte werden gewöhnlich über Nacht oder auch bis 24 Stunden in der Färbeflüssigkeit gelassen. Ausgewaschen wird mit gewöhnlichem Wasser so lange, bis sich die vorher röthliche Farbe der Objekte in eine tiefviolette umgewandelt hat. Dann überführt man wieder in Alkohol von steigender Koncentration. Ist die Kernfärbung nicht klar genug, so kann man, nachdem man die frisch gefärbten Objekte mit 50%igem Alkohol ausgewaschen, mit 50%igem Alaunalkohol differenziren, den man sich herstellt, indem man Kalialaun im Ueberschuss in 50%igen Alkohol wirft, tüchtig umschüttelt und absetzen lässt. Ausgewaschen wird mit 50%igem Alkohol. Die Färbung ist sehr gleichmässig und dringt selbst in sehr grosse Objekte ein, ohne dass eine Ueberfärbung eintritt. Voeltzkow hat darin Embryonen von 4—5 Cm. Länge in toto gefärbt. Zu bemerken ist, dass der ungereinigte Holzessig möglichst klar sein muss. Vollständig zu verwerfen ist der fast tintenfarbene, wie man ihn gewöhnlich in Droguerien erhält. Bei gereinigtem Holzessig, den man auch benutzen kann, muss man aber tagelang kochen, um eine einigermassen brauchbare Lösung zu erhalten; die damit erhaltene Farblösung färbt auch weniger intensiv und bildet Niederschläge. Voeltzkow meint, dass im ungereinigten Holzessig Stoffe enthalten sind, die für Karminaufnahme eine besondere Fähigkeit besitzen, die aber bei den Rektifikationen des Holzessigs verloren gehen.

Voeltzkow, welcher die embryologischen Konservirungsmethoden in dem tropischen Klima von Madagaskar erprobte, zieht die Chromsäure auf Reisen jedem anderen Konservirungsmittel vor, und zwar aus dem sehr einfachen Grunde, weil man stets ein kleines Gläschen mit fester Chromsäure bei sich tragen kann. Voeltzkow war hierdurch bei tagelang dauernden Jagdausflügen, bei denen jedes Mitnehmen von Alkohol oder anderen Konservirungsmitteln ausgeschlossen blieb, doch stets genügend ausgerüstet, um Seltenheiten, wie Embryonen der Tagesbeute, zu konserviren. (Vergl. Voeltzkow, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Reptilien. Abh. herausgegeben von der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft. Bd. 26. Frankfurt a. M., 1899.)

b) 2. Perényi's Gemisch. 4 Theile 10%iger Salpetersäure, 3 Theile Alkohol (90%), 3 Theile $^1/_2$%iger Chromsäure.

Nach Mayer zur Fixirung eine »irrationelle« Mixtur, da Chromsäure und Alkohol sich in demselben bald zersetzen; ihre günstige Wirkung beruht wohl hauptsächlich auf der Salpetersäure, ist aber trotzdem von manchen Embryologen zur Fixirung von Eiern und Embryonen mit Erfolg gebraucht worden.

b) 3. Chromessigsäure. Chromsäure 2—2$^1/_2$ Theile, Essigsäure 1 Theil, Wasser 1000 Theile.

Nachfärbung mit Hämateïnthonerde (für Safranin und andere Theerfarben eignen sich die Präparate nicht).

b) 4. Chromameisensäure (Rabl). Zu 200 Ccm. einer $^1/_3$%igen Chromsäurelösung werden unmittelbar vor dem Gebrauche 4—5 Tropfen koncentrirter Ameisensäure zugesetzt. Fixirung 12—24 Stunden, Wasserspülung, Alkoholhärtung, Hämatoxylin oder Safranin.

b) 5. Chromsäure und Platinchlorid (Merkel's Gemisch). 1 Theil Platinchlorid, 1 Theil Chromsäure, 800 Theile dest. Wassers.

Fixirt nur langsam. Auswaschung mit 50—70%igem Alkohol. Gute Tinktion möglich. Eignet sich für sehr zarte Objekte.

Whitmann hat gleiche Theile von $^1/_4$ %igem Platinchlorid mit 1 %iger Chromsäure empfohlen, sonst wie oben.

b) 6. Bichromate.

Diese dienen in erster Linie zur Härtung, weniger zur Fixirung.

b) 6. *a)* Kaliumbichromat in 2—5 %iger wässeriger Lösung. Man beginnt mit schwacher Lösung und geht dann zu stärkeren über (bis 5 %). Die Härtung dauert längere Zeit (Wochen); die Stücke können lange in der Lösung liegen bleiben. Auswaschen und Alkoholbehandlung wie bei der Chromsäure.

b) 6. *b)* Müller'sche Lösung. Kaliumbichromat 2—$2^1/_2$ Grm., Natriumsulfat 1 Grm., Wasser 100 Ccm. Anwendung wie bei *b)* 5. *a)* Zur Konservirung und Härtung grösserer Embryonen oft angewendet.

b) 6. *c)* Erlicki's Gemisch. Kaliumbichromat $2^1/_2$ Grm., Kupfersulfat 1 Grm., Wasser 100 Ccm.

Härtet schneller als die Müller'sche Lösung. Für Konservirung grosser Embryonen empfohlen. Nachbehandlung wie bei der Müller'schen Lösung.

c) Sublimat (Quecksilberchlorid) und sublimathaltige Kompositionen.

Ist für embryonales Gewebe ein ausgezeichnetes Fixirungsmittel, welches auch den Vortheil bietet, dass nach seiner Anwendung Plasma- und Kernfärbung sehr gut gelingen. Da es etwas schwer eindringt, empfiehlt sich der Zusatz von anderen leicht eindringenden Reagentien, besonders Essigsäure (siehe unten).

Nach der Fixirung werden die Stücke mit Alkohol (70 %), nicht oder nur ausnahmsweise mit Wasser ausgewaschen. Koncentrirte reine Sublimatlösungen bewirken meist eine stärkere Schrumpfung zarter Embryonen.

Alle mit Sublimat oder sublimathaltigen Kompositionen fixirten Gewebe müssen sorgfältig mit Jod behandelt werden, um den Ueberschuss des Sublimats zu entfernen und die in den Geweben sich bildenden Krystalle zu beseitigen. Für kleinere Objekte empfiehlt Mayer Zusatz von Jodtinktur zu dem Waschalkohol, der so lange zu wechseln ist, bis er nicht mehr durch die Objekte entfärbt wird. Für grosse Objekte ist es nach Mayer besser, Jodjodkalium anzuwenden; man hält sich ein Gemisch einer Lösung von 5 Grm. Jodkalium in 5 Ccm. Wasser und von 0,5 Grm. Jod in 45 Ccm. 90 %igen Alkohols vorräthig und lässt es nach Bedürfniss in den Waschalkohol einträufeln. Am besten behandelt man in dieser Weise zuerst die Keimscheiben und Embryonen und dann noch einmal die aufgeklebten Schnitte vor dem Färben mit einer schwachen alkoholischen Lösung von Jodjodkalium. Die mit Jod behandelten Schnittserien müssen noch einmal durch Alkohol geschickt und dadurch von Jod befreit werden, bevor sie in die Färbeflüssigkeiten kommen. (Im speciellen Theil ist bei Angabe der Technik nach Sublimatfixirung die Jodbehandlung als selbstverständlich nicht besonders erwähnt.)

Sublimat wird in den folgenden Lösungen und Kompositionen für embryologische Zwecke angewendet:

c) 1. In der Kälte gesättigte Lösung (6—7 %) in Aqua destillata.

c) 2. Heiss gesättigte Lösung in Aqua destillata.

c) 3. Heiss gesättigte Lösung in $^1/_2$ %iger Lösung von Chlornatrium; wirkt mehr schrumpfend als die einfache wässerige Lösung.

c) 4. Eine kalt oder auch heiss gesättigte Lösung in Aqua destillata mit Zusatz von 5 Vol. Eisessig (Eisessigsublimat). Ueberall, wo im speciellen Theil von Eisessigsublimat die Rede ist, ist diese 5%ige Lösung gemeint. Statt der koncentrirten Lösung kann man auch eine 5%ige Sublimatlösung nehmen. Wirkt besser und dringt leichter ein als die einfachen Sublimatlösungen. Stärkerer Zusatz von Eisessig als 5% schadet der Färbbarkeit der Kerne. Die Essigsäure wird am besten jedesmal kurz vor dem Gebrauche zugesetzt.

c) 5. Alkoholische Lösung mit oder ohne Zusatz von Eisessig und Kochsalz.

c) 6. Sublimat mit Salpetersäure. Salpetersäure (etwa 1,456 spec. Gew.) von 46% = 15 Ccm., Eisessig 4 Ccm., Sublimat 20 Grm., 60%iger Alkohol 100 Ccm., Aqua destillata 880 Ccm. (Vorschrift nach Gilson.)

c) 7. Sublimat und Pikrinsäure. Gesättigte Lösung von Sublimat in Wasser und desgleichen von Pikrinsäure in Wasser, je 1 Theil, Aqua destillata 2 Theile. Vorschrift nach Rabl; eignet sich namentlich für ältere Embryonen, z. B. Hühnerembryonen von 3—4 Tagen und entsprechend grosse Embryonen anderer Wirbelthiere. Einwirkungsdauer je nach Grösse 12 Stunden bis 2 Tage. Wasserspülung für ein paar Stunden.

(Pikrinsäuresublimatosmiumgemisch siehe oben.)

c) 8. Sublimat und Kaliumbichromat (Zenker'sches Gemisch): 5% Sublimat und 5% Eisessig in Müller'scher Lösung (siehe oben). Einwirkung auf mittelgrosse Stücke 24 Stunden. Auswaschen in Wasser; bei dotterhaltigen Eiern empfiehlt es sich aber, in Alkohol im Dunkeln auszuwaschen. Der Eisessig darf erst kurz vor dem Gebrauche dem Gemisch zugesetzt werden. Zur Färbung empfiehlt sich Boraxkarmin oder Cochenillealaun.

c) 9. Sublimat und Platinchlorid. 1 Vol. koncentrirter Sublimatlösung. 2 Vol. 1%iger Platinchloridlösung, 2 Vol. Wasser.

Rabl empfiehlt diese Lösung besonders für junge Embryonen und Keimscheiben, die darin kaum schrumpfen; keine Wasserspülung.

d) Pikrinsäure.

d) 1. Die Pikrinsäure wird zur Fixirung der embryonalen Gewebe in starker (meist kalt gesättigter) wässeriger Lösung angewandt, worin die Objekte bis 24 Stunden verbleiben; schwache Lösungen maceriren. Die Säure muss stets mit 60—70%igem Alkohol ausgewaschen werden, welcher die Säure bei genügend langer Einwirkung leicht aus dem Gewebe entfernt; Wasserspülung wirkt schädlich. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich nach Mayer auch bei allen übrigen Manipulationen, das Wasser zu vermeiden und in alkoholischen Flüssigkeiten (Parakarmin, Boraxkarmin, Hämocalcium) zu färben, mit alleiniger Ausnahme vielleicht der wässerigen Färbemittel, die selbst etwas härten, wie Hämalaun, Karmalaun u. a.

d) 2. Pikrinschwefelsäure (Kleinenberg'sche Flüssigkeit). Nach Kleinenberg's Vorschrift werden zu 100 Vol. einer gesättigten wässerigen Pikrinsäurelösung 2 Vol. Schwefelsäure hinzugefügt, worauf der reichliche Niederschlag abfiltrirt werden muss; alsdann wird mit dem dreifachen Volumen Wasser verdünnt. Um Schwellungen zu verhüten, empfiehlt Kleinenberg noch den Zusatz von so viel Kreosot aus Buchenholztheer, als sich lösen will.

Nach Mayer's Vorschrift wird eine 2%ige Schwefelsäure (100 Vol. Aq. dest. und 2 Vol. koncentrirter Schwefelsäure) mit Pikrinsäure gesättigt. Diese koncentrirte Pikrinschwefelsäure wird zum Gebrauch mit dem dreifachen Quantum Wasser verdünnt.

Je nach der Grösse bleiben die Objekte (Embryonen) mehrere Stunden in der Flüssigkeit, worauf sie auf Stunden in 70%igen und dann in 90%igen Alkohol kommen; der letztere wird so lange gewechselt, bis die gelbe Farbe ganz oder fast ganz verschwunden ist. Das Auswaschen in Wasser ist streng zu vermeiden.

Die Pikrinschwefelsäure dringt schnell ein, lässt sich aus dem Gewebe mit Alkohol völlig und leicht entfernen und gestattet eine gute Färbung. Ist brauchbar zum Studium des embryonalen Schichtenbaues, eignet sich aber nicht für feinere Untersuchung. Das Bindegewebe quillt durch die Einwirkung der Schwefelsäure. Die Zellgrenzen der embryonalen Keimlagen, welche bei Anwendung der reinen Kleinenberg'schen Flüssigkeit nicht sehr scharf sind, werden nach Zusatz einer geringen Menge von Osmiumsäure deutlicher.

d) 3. Pikrinsalpetersäure (nach Mayer): Wasser 100 Ccm., Salpetersäure von 25% Salpetersäureanhydrid 25 Vol., dazu Pikrinsäure bis zur Sättigung. Wird unverdünnt angewandt.

Mayer empfiehlt die Pikrinsalpetersäure zur Fixirung dotterreicher Eier; die Säure lässt sich aber mit Alkohol langsamer auswaschen als die Kleinenberg'sche Flüssigkeit.

d) 4. Pikrinsäure-Platinchlorid: 1 Theil 1%iger Platinchloridlösung. 2 Theile koncentrirter wässeriger Pikrinsäurelösung, 7 Theile Aq. dest.

Giebt nach Rabl nicht ganz sichere Resultate. Das Auswässern darf nur kurze Zeit dauern.

d) 5. Pikrinsäure-Platinchloridessigsäure nach vom Rath: 200 Ccm. gesättigter Lösung von Pikrinsäure, 1 Grm. Platinchlorid (in 10 Ccm. Wasser gelöst), 2 Ccm. Eisessig.

d) 6. Pikrinessigsäure nach Boveri: Koncentrirte Lösung von Pikrinsäure 100 Vol., Aq. dest. 200 Vol., Eisessig 2 Vol.

Auswaschen in 70%igem Alkohol.

e) Salpetersäure.

In 3—5%iger wässeriger Lösung ein gutes Fixirungsmittel für kleinere Embryonen, da sie schnell eindringt. Ausgewaschen darf die Säure nur mit Alkohol (70%) (nicht mit Wasser) werden. Die Salpetersäure ist auch in starker Lösung (10%) (Einwirkung 1—2 Tage) für embryologische Zwecke oft benutzt worden, auch mit nachträglicher Ueberführung (auf 2—3 Tage) in wässerige Lösung von Kaliumbichromat.

e) 1. Salpetersäure-Chromsäure: Zur Fixirung von Keimscheiben und Embryonen leistet mir die Kombination von Salpetersäure mit Chromsäure (3 Theile 3%iger Salpetersäure, 1 Theil 1%iger Chromsäure) gute Dienste. Keine Wasserspülung, sondern direkte Ueberführung in 70%igen Alkohol, der bis zur Entfernung der Säuren gewechselt werden muss.

f) Essigsäure.

Die Essigsäure allein wird für embryologische Zwecke wohl nur bei vorübergehender Untersuchung zur Aufhellung, Sichtbarmachung und Fixirung der Kerne benutzt, zu letzterem Zwecke nach Flemming am besten in einer ½—1%igen Lösung. Im Verein mit anderen Reagentien bildet sie aber einen wichtigen Zusatz zu vielen Fixirungsmitteln (siehe oben).

g) Platinchlorid.

Für die Fixirung zarter Objekte in einer wässerigen Lösung von 1:300 empfohlen, findet es in der embryologischen Technik hauptsächlich nur in Zusammensetzung mit anderen Reagentien Anwendung. Nach Fi-

xirung in reiner Platinchloridlösung färben sich nach Rabl die Embryonen gewöhnlich schlecht, geben aber gute Oberflächenbilder.

h) Alkohol.

Koncentrirter Alkohol bewirkt eine starke Schrumpfung wasserreicher Gewebe, ist daher für zarte embryonale Objekte als Fixirungsmittel wohl nur sehr ausnahmsweise verwendbar. Dagegen ist er unentbehrlich für Fixirung und Konservirung grösserer Embryonen, in denen die Gewebe schon differenzirt sind, besonders bei dem Sammeln von Vertebratenembryonen auf wissenschaftlichen Reisen, durch Sammler u. s. w. Für nicht zu grosse Objekte, welche eine schwach schrumpfende Einwirkung vertragen können, empfiehlt sich absoluter Alkohol, für grössere Embryonen schwächere Lösung (50—90%). Man muss dabei Sorge tragen, dass der Alkohol schnell und überall eindringt. Grössere Embryonen müssen aufgeschnitten, eventuell injicirt werden. Auch ist der Alkohol häufig zu wechseln, und die Embryonen dürfen nicht einfach auf den Böden des Glases gelegt werden, sondern müssen darin auf Watte ruhen oder aufgehängt werden, damit sie stets von reinem koncentrirterem Alkohol umgeben sind, während das Wasser des Objektes sich zu Boden senkt. Die definitive Aufbewahrung findet in 90%igem Alkohol statt. Wird mit diesen Kautelen verfahren, so konserviren sich die Zellen, Zellkerne und Gewebslagen in Wirbelthierembryonen durch Alkoholbehandlung recht gut, wie ich z. B. an grösseren Gürtelthierembryonen, welche von Sammlern in Südamerika lediglich mit Alkohol konservirt waren, habe ersehen können.

Ueber die Verwendung des Alkohols in Verbindung mit anderen Fixirungsmitteln, deren Vermögen, in die Gewebe leicht einzudringen, durch Alkoholzusatz bedeutend erhöht wird, siehe oben.

Ranvier's Drittel-Alkohol (2 Theile Aq. dest. und 1 Theil Alkohol 90%) findet bei embryologischen Untersuchungen wohl nur selten Anwendung, wenn es sich darum handelt, Zellenelemente (besonders Epithelien) durch Maceration zu isoliren.

i) Formol.

Formol ist in neuerer Zeit vielfach als Fixirungs- und Härtungsmittel empfohlen worden; es dürfte aber mehr ein Härtungs- als ein Fixirungsmittel sein.

Auch in der embryologischen Technik ist es nach meiner Erfahrung verwendbar, besonders wenn es sich darum handelt, ganze, mit Embryonen versehene Eier oder auch grössere Embryonen in ihrer natürlichen Lage und natürlichem Aussehen zu erhalten. Meist genügen 3—4%ige Lösungen von Formol (3—4 Theile der 40%igen Formaldehydlösung und 100 Theile Aq. dest.).

Aus dem Formol kommen die Embryonen nach einigen Stunden in (70%igen) Alkohol, können aber auch längere Zeit in Formol bleiben; in diesem Falle muss die Formollösung aber einigemale erneuert werden. Formolembryonen sehen makroskopisch wie frisch aus.

Formol dringt in die Gewebe leicht ein, erhält ihre Durchsichtigkeit und mehr oder weniger auch ihre natürliche Färbung, eignet sich aber für gewöhnlich nicht zur Fixirung feinerer Strukturen.

Formol ist auch in Verbindung mit anderen Reagentien verwendet worden.

Es seien genannt:

i) 1. Formolsublimat: 1 Theil Formol, 3 Theile gesättigter wässeriger Sublimatlösung. Einwirkung 2—3 Stunden. Kurzes Abspülen und Ueberführung in 70%igen Alkohol (Boveri).

b) 2. Formol und MÜLLER'sche Flüssigkeit: 9—10 Theile MÜLLER-scher Flüssigkeit, 1 Theil Formol.

Stets erst vor dem Gebrauch zusammen zu giessen.

5. Färbung.

Bei der Tinktion embryologischer Objekte kommt es in erster Linie auf eine distinkte Kernfärbung an, mit welcher vortheilhaft eine differente Protoplasmafärbung verbunden wird. Die letztere kann durch einen zweiten Farbstoff bewirkt werden und wird am besten an die Kernfärbung angeschlossen. Hierzu kommen dann noch elektive Färbungen, durch welche nur ganz bestimmte Zellbestandtheile, z. B. Centralkörper, Knorpel u. s. w. gefärbt werden sollen. Hier sollen auch wieder nur die wirklich bewährten und praktisch allgemein brauchbaren Tinktionsmittel aufgezählt werden, und das sind im Grunde nicht allzu viele; man kommt auch bei umfangreichen embryologischen Untersuchungen schon mit wenigen zuverlässigen Färbemitteln gut aus.

Auch für die Farbstoffe gilt die Regel, dass stets ein reichliches Quantum davon genommen wird; auch müssen die zu färbenden Objekte so gelagert sein, dass der Farbstoff von allen Seiten hinzutreten kann.

Die Färbung wird ausgeübt als Stück- und als Schnittfärbung.

Bei der Stückfärbung werden die Keimscheiben und die Embryonen in toto gefärbt, wozu je nach der Grösse und Durchdringlichkeit des Objektes Stunden oder Tage erforderlich sind. Die alkoholischen Farbstoffe verdienen hierbei den Vorzug; zur Stückfärbung werden vorwiegend benutzt: Boraxkarmin, Karmalaun, Alauncochenille.

Bei der Schnittfärbung werden die aufgeklebten Serien gefärbt und gelten hierfür alle in der histologischen Technik gebräuchlichen Regeln.

Für jeden Einzelfall giltige, allgemeine Regeln könneu für die Verwendung eines jeden Farbstoffes nicht aufgestellt werden, da dessen Verwendbarkeit von der Eigenart des jedesmaligen embryologischen Materiales, von der Vorbehandlung desselben, vor allem aber von den angewandten Fixirungsmitteln abhängt.

A. Kernfärbemittel.

a) Karmingemische.

Ausser der Kernfärbung lässt sich durch diese Farbstoffe bei nicht zu weit getriebener Differenzirung der Kerntinktion eine genügende Plasmafärbung meist gleichzeitig erzielen, so dass in dem embryonalen Gewebe auch die Zellkörper mit ihren Fortsätzen deutlich hervortreten. Sonst empfiehlt sich die Anwendung eines zweiten, das Protoplasma tingirenden Farbstoffes.

Bei Anwesenheit von kleinen Skelettbildungen, die erhalten werden sollen, darf keins der sauren Gemische oder der GRENACHER'schen Lösungen angewandt werden.

Alkoholische Gemische.

a) 1. Boraxkarmin nach GRENACHER. Besonders für Stückfärbung, lässt sich aber auch sehr gut zur Färbung von Serienschnitten verwenden. Die gefärbten Präparate kommen direkt in Alkohol von 70%, dem Salzsäure (4—6 Tropfen auf 100 Ccm.) zugesetzt ist. Bei der Färbung der Serienschnitte dürfen die Objekte nicht zu lange in dem Salzsäurealkohol liegen.

a) 2. Parakarmin nach MAYER. Besonders für Stückfärbung bei solchen Objekten, die keine wässerigen Farblösungen vertragen, wenn sie

einmal in Alkohol gewesen sind. Die Objekte dürfen nicht viel Kalk (Skelette) enthalten, der zu Niederschlägen Veranlassung giebt. Auswaschen in 70%igem Alkohol.

Wässerige Gemische.

a) 3. Karmalaun nach MAYER.

a) 4. Alaunkarmin nach GRENACHER. Besonders für Schnittfärbung; da es schwer in die Tiefe eindringt, eignet es sich nicht zum Durchfärben grösserer Stücke. Nach der Tinktion Abspülung in Wasser. Ueberfärbt nicht.

a) 5. Alauncochenille (CZOKOR) nach der Vorschrift von RABL. Von RABL für Keimscheiben und Embryonen sehr empfohlen; dieser Autor fand für die Eier und Embryonen von Petromyzon aber Boraxkarmin mehr geeignet. Besonders für Stückfärbung.

b) Hämatoxylin und Hämateïngemische.

Besonders für Schnitt-, aber auch für Stückfärbung. Färben Kerne, aber auch etwas das Protoplasma. Das letztere wird sehr zweckmässig nach der Hämatoxylintinktion mit Eosin gefärbt. Die meisten Hämatoxylingemische überfärben sehr leicht. Ueberfärbte Präparate werden durch Auswaschen mit Alaunlösung oder mit schwacher Säure (Salzsäure von $^1/_{10}$%) wieder brauchbar gemacht. Die Säure muss sodann durch reichliche Wasserspülung wieder entfernt werden.

b) 1. DELAFIELD's Alaunhämatoxylin. Ich verwende dieses Gemisch schon seit Jahren zur Färbung von Serienschnitten von Embryonen, z. B. von Säugethieren, in ganz dünner Lösung, worin die Objektträger 24 Stunden verbleiben; alsdann werden die Präparate mehrere Stunden mit Leitungswasser abgespült. Giebt dann sehr gute Kernfärbung und bei nachfolgender Färbung mit Eosin sehr instruktive Bilder.

JOSEPH hat kürzlich auch die Stückfärbung für Embryonen vermittelst ganz dünner Lösung von DELAFIELD's Hämatoxylin empfohlen. Hiernach kommen die aus dem Aufbewahrungsalkohol in Wasser gebrachten, nicht allzu grossen Stücke nach dem Zubodensinken in eine stark verdünnte (etwa 1:25—30) Lösung von DELAFIELD'schem Hämatoxylin, darin verweilen sie 1—3 Tage, auch noch länger. Die Lösung färbt auf diese Weise selbst verhältnissmässig grosse Stücke sehr gleichmässig durch, wobei es sich fast immer um eine ganz reine Kernfärbung handelt. Nach Ablauf der Zeit, deren Dauer sich nach der Koncentration des Färbemittels, Grösse der Objekte und deren sonstiger Beschaffenheit richtet und daher meist erst durch Erfahrung festgestellt werden muss, werden die Stücke flüchtig in Wasser abgespült, in Alkohol übertragen u. s. w. Kalkhaltige Gewebe können so behandelt werden, da bei der Reinheit der Färbung eine Differenzirung mit Salzsäure nicht nöthig ist. Zur Nachfärbung dieser Präparate empfiehlt JOSEPH die VAN GIESON'sche Pikrinsäure-Säurefuchsinmethode. Bei dieser Hämatoxylinfärbung leidet durch die Einwirkung der Pikrinsäure die Färbung nicht.

b) 2. EHRLICH's essigsaures Hämatoxylin. Giebt eine sehr scharfe Kernfärbung. Auch für Stückfärbung empfohlen.

b) 3. Hämalaun nach MAYER. Für Schnitt-, besonders aber Stückfärbung. Ausgewaschen wird in einer 1—2%igen Alaunlösung, wonach reinere Kernfärbung resultirt. Der Alaun muss sorgfältig wieder ausgewaschen werden, worauf die gefärbten Objekte zur Bläuung noch mit Leitungswasser gewaschen werden. Bei dem Einschluss sind Bergamott- und Nelkenöl

zu vermeiden, dafür Chloroform, Xylol oder Benzol: hierin muss auch der Balsam gelöst sein. Für Doppelfärbung empfiehlt MAYER: Karmalaun, Säurefuchsin, Indigokarmin u. a.

b) 4. Noch präciser färbt nach MAYER dessen saures Hämalaun (mit Zusatz von 2% Essigsäure).

b) 5. Hämocalcium nach MAYER. Färbt nach MAYER nicht so gut wie Hämalaun. Hauptsächlich für solche Objekte, die keine wässerige Farbstofflösung vertragen, wenn sie einmal in Alkohol gewesen sind. Dient als Ersatz für das früher oft verwendete KLEINENBERG'sche alkoholische Hämatoxylingemisch.

b) 6. Hämatoxylinchrom nach R. HEIDENHAIN. Reich abgestufte Kern- und Plasmafärbung, eignet sich auch zur Stückfärbung. Nach Fixirung mit Alkohol, Pikrinsäure, Chromsäure und FLEMMING'scher Lösung.

b) 7. Eisenhämatoxylin nach M. HEIDENHAIN. Nur für Schnittfärbung. Hauptsächlich zum Nachweis der Centralkörper, dann aber auch zur Färbung der Kerne, Chromosomen, Muskelstruktur u. s. w.

c) Theerfarbstoffe.

In der embryologischen Technik meist zur Nachfärbung und Doppelfärbung der (schon mit Kernfärbung versehenen) Serienschnitte benutzt. Für Stückfärbung nicht verwendbar. Nur wenige werden auch zur direkten Kernfärbung benutzt; von letzteren seien als am meisten gebräuchlich hier nur die folgenden aufgeführt:

c) 1. Methylgrün. In starker wässeriger Lösung unter Zusatz von etwa 1% Essigsäure. Dient hauptsächlich zum Färben der Kerne von frischem oder von frisch fixirtem Gewebe.

c) 2. Safranin. Wird angewandt nach Fixirung mit FLEMMING'schem Gemisch zur Tinktion der Kerne und besonders auch der Mitosen. Die Schnitte müssen mehrere Stunden dem Farbstoff ausgesetzt sein. Aus dem Farbstoff kommen die Schnitte in neutralen oder auch etwas angesäuerten Alkohol, bis die Differenzirung eingetreten ist. Einschluss in Balsam.

c) 3. Gentianaviolett. Anwendung wie bei *c)* 2. Färbt dunkler und intensiver als das Safranin. Eignet sich zu Doppelfärbungen mit rothen oder gelben Plasmafarbstoffen.

B. Plasmatinktionen.

Werden bei der Tinktion am besten in der Weise angewandt, dass man nach der Kernfärbung vor dem Einschluss in Kanadabalsam sie in dem Alkohol löst, der zum Entwässern der mit dem Kernfarbstoff gefärbten Objekte benutzt wird.

a) Pikrinsäure. In alkoholischer Lösung, besonders nach Karminfärbung angewandt.

b) Orange G. Zum Nachfärben nach Eisenhämatoxylin, DELAFIELD'schem Hämatoxylin, Hämalaun geeignet. Wird in koncentrirter wässeriger Lösung benutzt, worin die Schnitte 5—10 Minuten bleiben.

c) Säurefuchsin. In schwacher (1 : 500) wässeriger Lösung zur Nachfärbung nach Hämalaun und Methylgrün zu verwenden.

d) Säurefuchsin und Pikrinsäure. Von VAN GIESON zuerst empfohlen. Nach MAYER werden zu 100 Theilen einer gesättigten Lösung von Pikrinsäure 5 Theile einer 1%igen Lösung von Säurefuchsin hinzugesetzt. Zur Nachfärbung nach Hämatoxylin.

e) Eosin. Nach Hämatoxylinfärbungen die geeignetste Protoplasmafärbung. Wird in wässeriger oder besser alkoholischer Lösung angewandt.

f) Lichtgrün S. F. In wässeriger oder alkoholischer Lösung. Zur Plasmafärbung nach rother Kerntinktion. (Safranin und besonders Karmin.)

g) Indigokarmin. Zur Nachfärbung nach Karminfärbungen in wässeriger oder alkoholischer Lösung. (1 : 200 70%igen Alkohol.)

Auf die vitale Methylenblaufärbung nach Ehrlich, die auch für Embryonen, z. B. von Amphioxus, schon angewandt ist, ferner auf die Metallimprägnation mit Silber, Gold, Chromsilber (Golgi), die gelegentlich für specielle Zwecke bei embryologischen Studien in Anwendung kommen, kann hier nicht eingegangen werden und muss mit Bezug darauf auf die entsprechenden Kapitel dieser Encyklopädie verwiesen werden. Erwähnt sei nur, dass sich das embryonale Gewebe ganz hauptsächlich für die Anwendung der Golgi'schen Methode eignet; für das Studium des Nervensystems sind daher auch vorwiegend Wirbelthierembryonen benutzt worden.

Ueber die Injektionstechnik und Hochstetter'sche Methode der Darstellung der Formverhältnisse gewisser Hohlräume und Gangsysteme des embryonalen Körpers vergl. den Artikel Injektion.

6. Einbettungs-, Schneide- und Aufklebetechnik.

6. *a)* Einbettung. Mikrotomirung.

Die Einbettung hat in erster Linie den Zweck zu ermöglichen, die Keimscheiben und Embryonen in Serienschnitte zu zerlegen.

Gerade bei embryologischem Material muss die Einbettung aber auch aus dem Grunde oft ausgeführt werden, um zarte Objekte transportfähig zu machen. Das gilt vor allem für Keimscheiben und kleine zarte Embryonen, z. B. von Vögeln und Reptilien; ich weiss aus eigener Erfahrung, dass z. B. Keimscheiben von Vögeln auch nach sorgfältigster Fixirung und bei bester Verpackung durch die Erschütterungen einer zweistündigen Wagenfahrt so leiden, dass sie unbrauchbar sind. Forschern und Sammlern, welche embryologisches Material auf wissenschaftlichen Reisen sammeln, ist daher nicht dringend genug anzurathen, irgendwie zarteres embryologisches Material sogleich nach der Härtung im Laboratorium, in welchem die Konservirung vorgenommen wurde, wenn auch nur provisorisch einzubetten, bevor noch dasselbe irgendwie transportirt wird. Mehnert und Mitrophanow benutzten zur Einbettung das Photoxylin, welches von ihnen für Expeditionen besonders empfohlen wird, weil es den grossen Vortheil besitzt, dass es in der Form von Photoxylinwatte mitgeführt werden und bei etwaigem Gebrauche im Laufe weniger Minuten in einer jeden gewünschten Koncentration in Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen aufgelöst werden kann. Das Photoxylin durchdringt nach Mehnert die Gewebe auch rascher als Celloidin und hat ausserdem den Vorzug grösster Durchsichtigkeit. Die mit Photoxylin eingebetteten Stücke werden am besten in 70%igem Alkohol aufbewahrt.

Zum provisorischen Einschluss zum Zwecke gefahrlosen Transportes sind aber auch Celloidin und Paraffin nicht minder verwendbar.

Voeltzkow umging die provisorische Einbettung bei dem Transport seiner auf Madagaskar gesammelten Keimscheiben von Reptilien durch eine besondere Art der Verpackung, welche sich bewährte und daher hier erwähnt sein mag. Dieser Forscher bediente sich kleiner Gläschen von 25 Mm. Höhe und 10 Mm. Durchmesser mit geradem Boden. In je ein Gläschen wurde eine Keimscheibe verpackt, und zwar so, dass sie flach dem Boden des Gläschens anlag und durch einen Wattepfropf, dessen zarte Spitzen die Keimscheibe gerade berührten und jede Bewegung verhinderten, in ihrer Lage verblieb. Das Gläschen wurde dann durch einen stärkeren Wattepfropf verschlossen. Bei besonders wichtigen Stadien wurden die kleinen Gläschen

mit Watte umhüllt und in grössere eingelegt und dann das Ganze nochmals endgiltig mit Watte in Standgläser verpackt. Bei dieser Art der Verpackung wurde das Schütteln der Keimscheiben, die dem Boden des Gläschens fest anlagen, vermieden.

6. *a)* 1. Paraffineinbettung.

Für lückenlose Serien ist ausschliesslich nur diese verwendbar. Als Zwischenmittel zur Ueberführung embryonalen Materials aus dem absoluten Alkohol in Paraffin sind verschiedene Reagentien in Gebrauch, und ist die Auswahl mehr dem Geschmack des Einzelnen überlassen, auch richtet sie sich etwas nach dem einzubettenden Gegenstand. Die gebräuchlichsten Zwischenmittel sind: Xylol, Benzol, Bergamottöl, Cedernholzöl, Chloroform. Das letztere verwende ich selbst mit bestem Erfolge schon seit Jahren. Sind bei zarten Objekten Diffusionsströme möglichst zu vermeiden, so kommen die Objekte zuerst in Mischungen des Zwischenmittels mit absolutem Alkohol, dann in das reine Zwischenmittel, von diesem in Mischungen des Zwischenmittels mit dem Paraffin und schliesslich in reines Paraffin. Das letztere ist zu wechseln, besonders wenn grössere Objekte eine grössere Menge des Zwischenmittels in das Paraffin übergeführt haben. Als Einbettungsgefässe sind am einfachsten kleine flache Glasschalen, die mit einem Glasdeckel bedeckt werden, zu benutzen. Um den Gang der Einbettung, wie sie bei gewöhnlichen embryologischen Objekten auszuführen ist, kurz zu skizziren, so kommt das einzubettende Objekt aus dem absoluten Alkohol (sorgfältigste Entwässerung ist die erste Hauptbedingung!) in ein Gemisch von absolutem Alkohol und Chloroform zu gleichen Theilen, darauf in reines Chloroform, in welchem es im Paraffinofen angewärmt wird. Sodann kann man (bei zarten Objekten) stückweise Paraffin von 45⁰ Schmelzpunkt bis zur Sättigung des Chloroforms allmählich hinzuthun; oder man giesst das Chloroform bis auf einen kleinen Rest, in welchem das Objekt schwimmt, vorsichtig ab und ersetzt dasselbe durch flüssiges Paraffin von 45⁰ Schmelzpunkt. Hierin verbleiben die Objekte, bis sie völlig durchtränkt sind. Alsdann giesst man dieses Paraffin ab und füllt dafür flüssiges Paraffin von 52—58⁰, durchschnittlich 56⁰ Schmelzpunkt, vorsichtig nach; in letzterem verbleiben die Präparate kürzere Zeit als in dem von 45⁰. Die Einwirkungsdauer dieser Reagentien richtet sich nach der Grösse und Beschaffenheit des Objektes. Bei ganz kleinen Objekten (kleinen Eiern) genügen oft schon Minuten, bei grösseren Embryonen sind Stunden (6—8) erforderlich. Zu beachten ist, dass man die Objekte nicht unnütz lange in heissem Paraffin lässt, sondern nur so lange, als zur völligen Durchtränkung erforderlich ist. Besonders dotterreiche Eier, z. B. von Amphibien und Petromyzon, dürfen nur ganz kurze Zeit in heissem Paraffin verweilen. Auch darf die Erwärmung des Paraffinofens den Schmelzpunkt der Paraffinsorte nicht wesentlich übersteigen. Wichtig ist, dass das Paraffin, in welchem die Embryonen schliesslich eingebettet sind, ganz frei von Chloroform, respektive den andern angewandten Zwischenmitteln ist.

Das Abkühlen des Paraffins habe ich stets in Eiswasser, in welchem noch etwas Eis schwimmt, vorgenommen und so jede Krystallbildung im Paraffin sicher vermieden.

Vor dem Abkühlen sind die Objekte in Paraffin vermittelst erwärmter Nadeln zu orientiren. Ueber specielle Methoden der Orientirung, ferner über die Anbringung von Richtlinien am Paraffinblock zum Zwecke der Rekonstruktion siehe Artikel Rekonstruktion.

Das Paraffin wird erst schnittfähig, wenn es die Temperatur des Laboratoriums angenommen hat.

Zur Anfertigung von Serienschnitten leisten die mittelgrossen Schlittenmikrotome von JUNG, SCHANZE und BECKER (siehe unter Mikrotom) die besten Dienste. Es ist viel darüber debattirt worden, ob es besser ist, mit schräg oder quer gestellter Klinge zu schneiden: die letztere Messerstellung dient besonders zum Schneiden zusammenhängender Schnittbänder. Ich persönlich schneide meine Serien gewöhnlich mit schräger Messerhaltung und nehmen jeden Schnitt mit einer feinen Pincette einzeln ab. Das ist allerdings zeitraubend, scheint mir aber mehr Garantie dafür zu bieten, dass keine Verschiebung und Verzerrung des eingebetteten Objekts im Paraffinschnitt entsteht, was für die Feststellung der embryonalen Schichtenlagerung sehr wesentlich ist. Schnittstrecker sind sehr überflüssig, da ein kleiner, feiner, geschickt gebrauchter Pinsel vollständig ausreicht, das Rollen der Schnitte zu verhindern.

Bei manchen Embryologen sind die MINOT'schen Mikrotome (siehe unter Mikrotom) in Gebrauch, bei welchen das Objekt sich an der quergestellten festen Messerklinge vertikal vorbei bewegt und welche eine fabrikmässig schnelle Herstellung von Schnittbändern gestatten. Für manche embryologische Objekte, die es vertragen können, ist diese Schneidemethode recht bequem. Hauptbedingung hierfür ist, dass das zu schneidende Objekt eine ganz gleichmässige Konsistenz besitzt.

6. *a)* 2. Celloidin- (Kollodium- und Photoxylin-) Einbettung.

Wird für embryologische Zwecke nur noch hier und da angewandt, wenn es nicht darauf ankommt, lückenlose Serien oder besonders dünne Schnitte zu erhalten, und wenn es sich um besonders brüchige und sehr grosse Objekte handelt.

Die einzubettenden Stücke kommen aus absolutem Alkohol in ein Gemisch von Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen, darauf zuerst in eine dünne, dann in eine dicke Lösung von Celloidin in Alkohol absol. und Aether zu gleichen Theilen.

Photoxylin hat vor dem Celloidin noch den Vorzug, dass es ganz durchsichtig ist, die Einzelheiten an den Embryonen also darin leicht zu erkennen sind.

6. *a)* 3. Die kombinirte Celloidin-, respektive Photoxylin-Paraffineinbettung

empfiehlt sich bei in ihrem Zusammenhang leicht verschieblichen Objekten zur Erhaltung der topographischen Verhältnisse.

MITROPHANOW bringt die Embryonen zuerst auf 1—3 Tage in $^1/_2$ bis $1^0/_0$ige Lösung von Photoxylin, darauf zur Härtung in Alkohol von $70^0/_0$. Nach der Härtung wird der zurechtgeschnittene Block mit dem Objekt in $95^0/_0$igem Alkohol erwärmt, mit Bergamottöl, Origanumöl oder Chloroform durchtränkt und darauf in Paraffin eingebettet.

In Betreff alles Näheren über die Celloidin- und Photoxylintechnik siehe die betreffenden Artikel der Encyklopädie.

6. *b)* Aufklebung der Schnitte.

Die mit dem Mikrotom aus dem Paraffinmaterial hergestellten Serienschnitte, seien sie nun einzelne oder Schnittbänder, müssen auf grössere Objektträger genau in der Schnittfolge und der gleichen Lage aufgeklebt werden, und zwar so, dass jede Seite eines jeden Schnittes stets nach derselben Richtung sieht. Zum Aufkleben sind eine ganze Menge von Mitteln empfohlen worden, z. B. Wasser, Alkohol, Eiweiss, Schellack, Kollodium, Nelkenöl, Gummi arabicum u. a.; alle werden aber für embryologische Zwecke übertroffen durch ein Verfahren, welches zuerst von HENNEGUY

geübt wurde und welches ich mit einigen Modifikationen schon seit Jahren für Serien anwende. Nach meinen Erfahrungen ist dieses Verfahren geradezu ideal und genügt allen Anforderungen, welche man füglich an eine Aufklebemethode bei embryologischen Untersuchungen stellen kann. Es ist dabei gleichgiltig, mit welchem Fixirungsmittel die Stücke vorbehandelt waren; mit Chromsäure und Chromsäuresalzen fixirte Schnitte kleben ebenso fest wie mit Alkohol oder Sublimat fixirte. Ich vorfahre beim Aufkleben der Serienschnitte folgendermassen.

Objektträger von grösserem Format werden sorgfältig gereinigt, indem man dieselben mit 70—80%igem Alkohol mit einem Tuche abwäscht und dann mit einem ganz reinen Leinentuche trocken reibt. Sodann wird etwas Eiweissglycerin mit dem Finger auf der einen Objektträgerfläche in bekannter Weise möglichst dünn verrieben. Als Eiweissglycerin verdient die von Mayer zuerst angegebene Mischung vor allen andern den Vorzug. (Ganz frisches Eiweiss und koncentrirtes Glycerin je 50 Ccm. und Natriumsalicylat 1 Grm. werden gut gemischt und in eine ganz reine Flasche filtrirt; das Filtriren geht sehr langsam, tagelang.) Auch wenn die Schnitte erst nach dem Aufkleben gefärbt werden sollen, schadet der dünne Eiweissunterguss für embryologische Untersuchungen nichts, da er höchstens nur eine ganz minimale Färbung annimmt. In dieser Weise werden gerade so viele Objektträger vorbereitet, als für die anzufertigende Serie erforderlich sind. Ich kann nicht empfehlen, einen grösseren Vorrath davon herzustellen, da diese Gläser, auch wenn sie unter einer Glasglocke aufbewahrt werden, doch schon im Laufe einiger Tage verstauben. Die Vorbereitung der Objektträger lässt sich übrigens so schnell ausführen, dass es nichts verschlägt, wenn man bei zu knapp angefertigten Objektträgern während langer Serien zwischen dom Schneiden nach Bedarf noch Objektträger reinigt, obwohl es ja besser ist, wenn das Schneiden der Serien möglichst wenig unterbrochen und gleichmässig von Anfang bis zu Ende durchgeschnitten wird. Den mit dünnem Eiweissüberzug versehenen Objektträger legt man nun neben das Mikrotom auf ein Blatt weissen Papiers, auf welchem die Grösse des zu benützenden Deckgläschens durch Umrissstriche verzeichnet ist, so dass dieser Deckglasumriss mit der Mitte des Objektträgers zusammenfällt. Ein Schälchen mit reinem destillirten Wasser und einem Glasstab stellt man daneben. Nun benetzt man den Theil des Deckglasfeldes des Objektträgers, welches zuerst mit den Schnitten beschickt werden soll, mit einem Tropfen Wasser, der möglichst vertheilt wird. Ein zuviel des Wassers lernt man sehr bald vermeiden. Jetzt werden die Schnitte einzeln mit einer feinen Pincette von dem Mikrotommesser abgehoben und auf das Wasser gelegt, in der Reihenfolge und der Lage, die man beabsichtigt. Ob man die Schnitte in Reihen parallel dem längsten Objektträgerdurchmesser lagert oder quer dazu, ist Geschmackssache. Je nach Bedürfniss wird nun mit der Zunahme der aufgelagerten Schnitte successive Wasser tropfenweise zugesetzt. Da das Wasser überall netzt, ohne dabei anzulaufen, ist die regelmässige Anordnung der Schnitte leicht zu troffon und einzuhalton. Ist das Dockglasfeld des Objektträgers voll belegt, so nimmt man den Objektträger behutsam in die Hand und ontfernt den Ueberschuss des Wassers mit Filtrirpapier, doch nur so weit, dass dio Schnitto noch gut auf Wasser schwimmen. Dabei korrigirt man mit oinem feinen Pinsel noch etwaige in der Anordnung eingetretene Unregolmässigkeiten. Sodann bringt man den beschickten Objektträger über eine möglichst kleine Spiritusflamme und erwärmt ihn, indem man ihn darüber bewegt, gerade so lange, bis die sämmtlichen Schnitte sich gestreckt haben. Dabei muss man sich sehr hüten, zu stark zu erwärmen; denn sowie das Paraffin der Schnitte schmilzt, sind die letzteren unbrauchbar geworden. Bei der Streckung verkleben die Schnitte

an ihren Rändern gewöhnlich etwas untereinander, so dass sie nicht mehr so leicht aus der Ordnung kommen. Die gestreckten Schnitte nehmen dabei ein grösseres Areal ein als vorher. Man muss daher schon bei der Belegung des Objektträgers am Rande des Deckglasfeldes einen breiten Saum frei lassen.

Nach vorgenommener Streckung entfernt man mit Filtrirpapier oder einem nicht fasernden Tuche das an den Rändern beim Schräghalten des Objektträgers etwa herausfliessende Wasser und lässt jetzt den beschickten Objektträger trocknen. Am besten wird die Trocknung in einem Wärmofen bei 35°, höchstens 45° C. während 2—3 Tagen ausgeführt.

Henneguy setzt die Schnitte nur etwa 10 Minuten der Temperatur von 40° C. aus, um das Wasser abdunsten zu lassen, und erwärmt sodann den Objektträger auf 80—90°, um das Eiweiss des Ausstriches zur Gerinnung zu bringen. Nach meinen Erfahrungen ist diese Procedur aber nicht allein überflüssig, sondern auch schädlich. Die Schnitte haften völlig sicher, ohne dass man nöthig hat, durch diese hohe Temperatur das Paraffin zum Schmelzen zu bringen.

Die Objektträger sind nach dem Austrocknen zur Weiterbehandlung fertig; die Schnitte haften so fest, dass sie allen Manipulationen unterzogen werden können, ohne dass sich ein einziger oder auch nur Stücke eines solchen ablösten. Auf zweierlei muss man bei dem obigen Verfahren indessen besonders achten, erstens dass der Eiweissunterguss nicht zu dick ist, sondern ganz dünn und zweitens, dass die Schnitte genügend ausgetrocknet werden; sonst hat man Misserfolge. Auch ist bei dem Strecken der Schnitte darauf zu sehen, dass sich zwischen Schnitt und Wasseroberfläche keine Luftbläschen festsetzen. Die etwaigen Bläschen müssen vor dem Trocknen entfernt werden.

Sind die aufgeklebten Serienschnitte schon gefärbt, so kommen sie nach dem Austrocknen in Xylol zur Auflösung des Paraffins, vom Xylol in absoluten Alkohol, von diesem in ätherisches Oel oder auch wieder in Xylol und dann in Balsam. Die Behandlung mit absolutem Alkohol ist bei dieser Aufklebemethode mit Eiweissglycerin in jedem Falle vorzunehmen, um das Glycerin vor dem Balsameinschluss zu entfernen.

Sind die Schnitte noch nicht gefärbt, so werden sie gleichfalls zunächst in Xylol von dem Paraffin befreit, kommen dann in Alkohol absolutus, dann in schwachen Alkohol und von da in die betreffenden Farbstoffe, die man anwenden will und in denen sie beliebig lange liegen können, ohne dass sie sich ablösen.

Um allzu starke Diffusionsströme zu vermeiden, ist es rathsam, die Objektträger aus dem Wasser und den wässerigen Lösungen nicht direkt in absoluten Alkohol und umgekehrt zu bringen, sondern erst dünneren Alkohol als Zwischenstufe zu benützen.

Bei Massenbehandlung zahlreicher Objektträger sind von verschiedenen Seiten kleine Apparate empfohlen worden, welche ermöglichen, gleichzeitig eine grössere Anzahl mit Serien beschickter Objektträger z. B. mit Alkohol absolutus oder mit Farbstoffen zu behandeln. Das sind entweder Glaströge mit Rillen oder Leisten, in welche mehrere Objektträger einzeln eingestellt werden, oder Gestelle, vermittelst welcher die Objektträger zusammen aus einer Flüssigkeit in die andere gehoben werden können. Recht praktisch scheint die kleine Vorrichtung aus Glas zu sein, welche Holzapfel kürzlich für diesen Zweck konstruirt hat, und welche sammt dazu gehörigen Trögen von dem Glastechniker Heinrich Müller in Kiel zu beziehen ist. (Holzapfel, Gestell für Objektträger bei Reihenschnitten. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 59, 1901.)

Ich selbst ziehe es vor, die mit den Serien belegten Objektträger einzeln zu behandeln, und benütze ich zu diesem Zwecke flache, auf dem

Boden mit zwei niedrigen Leisten versehene viereckige Schalen aus Porzellan oder glasirtem Steingut, sogenannte Seifenschalen, die auch den Vorzug der Billigkeit haben und bei der Benützung nicht viel Flüssigkeiten beanspruchen. In dieselben werden die beschickten Objektträger mit der beschickten Seite nach unten gelegt, worauf die Schale mit einem Glasdeckel zugedeckt wird.

Um das theure ätherische Oel möglichst zu sparen, nehme ich nach der Behandlung mit Alkohol absolutus jeden Objektträger aus dem letzteren mit einer Pincette heraus und begiesse ihn möglichst schnell mit dem Zwischenmittel, meistens Bergamottöl, um so den Alkohol zu verdrängen. Den Ueberschuss des Zwischenmittels lässt man dann von dem vertikal hingestellten Objektträger ablaufen, um dann in Balsam einzuschliessen.

Zum Einschluss dient dünnflüssiger, in Xylol (auch Chloroform und Benzol) gelöster Kanadabalsam. Manche Embryologen geben dem Damarlack. der in Xylol gelöst wird, den Vorzug. Rabl befolgt bei letzterem die Vorsicht, das Deckglas vor dem Auflegen zu erwärmen, und glaubt dadurch die sonst zuweilen nach längerer Zeit auftretende Trübung des Damarlackes zu verhüten.

II. Specieller Theil.

A. Fische.

a) Amphioxus.

Günstige Orte für die Gewinnung reichlichen entwicklungsgeschichtlichen Materiales sind: auf Messina der Pantano, ein kleiner in der Nähe des Fischerdorfes Faro am nördlichen Eingange der Meerenge von Messina gelegener, mit dem Meere nur durch einen engen Graben zusammenhängender Salzsee; ferner der Golf von Neapel, besonders am Posilip. Der Amphioxus lebt hier in grosser Zahl im Meeressande der flachen Ufer.

1. Künstliche Befruchtung.

Die Gewinnung der Befruchtungsstadien ist an die Laichzeit des Amphioxus gebunden, welche nicht allein zu bestimmter Jahreszeit, sondern auch in bestimmten Tagesstunden eintritt. Nach Hatschek laicht der Amphioxus am Pantano im Mai bei nicht stürmischem, warmen Wetter gegen Abend ungefähr 8 Uhr, nach van der Stricht (in der Zeit vom 20.—30. Mai) von 5—6 Uhr nachmittags; nach Sobotta am Posilip bei Neapel im Juni bald nach 6 Uhr abends.

Sobotta verfuhr zur Gewinnung befruchteter Eier folgendermassen. Er entnahm dem Grunde des Wassers etwas Sand, der immer eine grössere Anzahl Thiere enthält, suchte die letzteren heraus und brachte sie wieder in Wasser in einer ganz reinen Glasschale zurück. Die Thiere legten dann meist schon nach $^1/_2$ Minute, spätestens nach 2—3 Minuten ihre Geschlechtsprodukte ab. Erfolgt das nicht innerhalb dieser Zeit, so sind weitere Versuche für diesen Tag unnöthig, da die Thiere in der Laichzeit nicht jeden Abend laichen; an dem einen Tage laichen fast alle ohne Ausnahme, an einem anderen Tage dagegen kein einziges. Da Männchen und Weibchen meist in gleicher Anzahl vorkommen, so wird man in der Glasschale bei genügender Anzahl der Thiere sicher beide Geschlechter antreffen. Die gelaichten Eier sind als feine weisse Pünktchen (von nicht mehr als 0,105 Mm. im Durchmesser) auch nach der ziemlich schnell erfolgenden Vertheilung im Seewasser noch einzeln zu erkennen, während das Sperma, welches anfangs als weissliche Wolke erscheint, sich sehr bald bei der Vertheilung den Blicken entzieht. Binnen wenigen Augenblicken ist nach dem Hineinsetzen

der laichenden Thiere die ganze Wassermasse spermahaltig, so dass selbst Eier, welche am entgegengesetzten Ende der Schale ausgeworfen sind, sofort besamt werden. Die Ausstossung der Geschlechtsprodukte geschieht nach den neueren Beobachtern aus dem Abdominalporus. Die älteren Angaben von KOWALEWSKY und HATSCHEK, wonach die Geschlechtsprodukte durch den Mund entleert werden sollen, erklärt SOBOTTA damit, dass die genannten Autoren Thiere unter anormalen Bedingungen vor sich hatten, die am Laichen gehindert waren und deren Eier oder Sperma sich in der Kiemenhöhle anhäufte.

Der Schale werden dann in bestimmten Zeiträumen mit reinen, jedesmal gewechselten Pipetten eierhaltige Wassermengen zur Untersuchung und Fixirung entnommen.

2. Beobachtung am lebenden Objekt.

Wie KOWALEWSKY und besonders HATSCHEK gezeigt haben, eignen sich die befruchteten Amphioxuseier in hervorragender Weise zum Studium der ganzen Embryonalentwicklung bis zum Auftreten des Mundes und der ersten Kiemenspalte am lebenden Objekt. Die Embryonalentwicklung geht sehr rasch vor sich und läuft in 48 Stunden ab, während die daran anschliessende Larvenentwicklung Monate in Anspruch nimmt.

Da die Besamung der Eier abends stattfindet, vollzieht sich die ganze Furchung zur Nachtzeit, muss also bei künstlichem Lichte studirt werden; nach HATSCHEK ist sie ungefähr nach 12 Uhr nachts beendigt. (H. giebt genaue, nach der Zeit geregelte Entwicklungstabellen.) Zum Studium der Entwicklungsvorgänge entnimmt man den Gläsern in bestimmten Zeiträumen lebende Embryonen und untersucht sie unter einem mit Wachsfüsschen versehenen Deckgläschen mit dem Mikroskop. Um einen Embryo von verschiedenen Seiten betrachten zu können, verschiebt man das Deckgläschen mit den Wachsfüsschen und wälzt so das Objekt, ohne es zu drücken.

Die Entwicklung der Larven ist an pelagisch gefischtem Material zu untersuchen.

3. Fixirung.

Nach VAN DER STRICHT und SOBOTTA ist für das Amphioxusei zum Studium der Befruchtungserscheinungen das FLEMMING'sche Gemisch das beste Konservirungsmittel. Sublimatlösungen rufen eine starke Schrumpfung hervor. Pikrinessigsäure giebt nur ausnahmsweise gute Resultate. Nach VAN DER STRICHT leistet auch die HERMANN'sche Lösung gute Dienste.

Die laichenden Thiere werden in toto in Pikrinsäuresublimatlösung mit Essigsäurezusatz unzerschnitten fixirt, da die Konservirungsflüssigkeit schnell genug in die Ovarien eindringt; das Gleiche leistet auch die HERMANN'sche Lösung, wenn man die Thiere nach kurzem Aufenthalte darin zerschneidet und die Stücke dann weiter fixirt.

Für die Konservirung der Furchungsstadien eignet sich nach HATSCHEK die Pikrinschwefelsäure, welche bei Aufbewahrung der Stadien in Glycerin gute Demonstrationspräparate liefert. Reine Osmiumsäure schwärzt die Objekte zu sehr. Die letztere wird erst brauchbar von den Stadien an, in welchen die Ursegmentbildung beginnt.

Die Stadien vom Beginne der Ursegmentbildung bis zur Abgrenzung von drei Ursegmenten erfordern nach HATSCHEK eine etwas andere Behandlung als die späteren, da sie durch den reichlicheren Gehalt an Dotterkörperchen sich gegen die Reagentien anders verhalten. HATSCHEK tödtete diese in Seewasser unterhalb des Deckgläschens befindlichen Embryonen (bis zum Stadium mit drei Ursegmenten) durch Zufliessenlassen eines Tropfens einer $^1/_2$%igen Osmiumsäure und setzte bei beginnender schwacher

Bräunung verdünntes Glycerin vorsichtig hinzu. Diese Behandlung ist so zu regeln, dass erstens die Bräunung nicht zu tief wird, zweitens ist auch darauf zu achten, dass die Form der Larve vollkommen erhalten bleibt, ohne dass Schrumpfung eintritt.

Bei der grossen Raschheit, mit welcher sich die embryonale Entwicklung anfangs vollzieht, ist es gut, sehr viele Stadien zu konserviren in sehr kurzen Zeiträumen, etwa jede halbe Stunde. Später genügt es, in grösseren Zeitintervallen zu fixiren, da sich dann der Embryo selbst in mehreren Stunden nur unbedeutend verändert. Mit einer Saugpipette werden die Embryonen, die in den frühesten Stadien innerhalb der Eihülle auf dem Boden des Glases liegen, sobald sie aber die Eihülle verlassen, in die Höhe steigen und auf der dem Licht abgewendeten Seite des Glases unmittelbar unter der Oberfläche des Wassers sich in dichtem Schwarme ansammeln, in kleine Uhrschälchen mit Seewasser übertragen, denen man einige Tropfen einer halbprocentigen Osmiumlösung (eventuell auch anderer Fixirungsmittel, z. B. Sublimatlösungen, Pikrinsäuresublimat, Flemming'sche Lösung) zusetzt. Nach genügender Einwirkung wird der ganze Inhalt der Uhrschälchen in ein kleines cylindrisches Gläschen geschüttet, in dem man die Embryonen sich zu Boden setzen lässt. Nachdem das Seewasser abgeschüttet, nahm Hatschek sogleich die Färbung vor, indem er eine Karminlösung hinzugoss, an deren Stelle nach genügender Färbung Wasser und schliesslich Alkohol von ansteigender Koncentration tritt.

Bei grösseren Larven gaben Joseph Sublimatlösungen (Eisessig-Sublimat, in Aq. destill., in Seewasser und in physiologischer Kochsalzlösung), ferner Pikrinsäuresublimat und die Perényi'sche Flüssigkeit die besten Präparate. Auch Morgan und Hagen erhielten durch Fixirung mit Eisessigsublimat die prägnantesten Oberflächenbilder, während Hermann'sche und starke Flemming'sche Lösung die Embryonen so stark schwärzten, dass sie für Oberflächenpräparate unbrauchbar sind; dagegen kommen durch die letzteren Reagentien die Dotterkörner und Zellgewebe sehr klar zur Darstellung.

4. Färbung.

Für die Befruchtungsstadien ist die Eisenhämatoxylinfärbung geboten, und zwar mit langer Einwirkungsdauer des Hämatoxylin (24—48 Stunden). Mit Safranin und Boraxkarmin konnte Sobotta keine gute Kernfärbung erzielen. Van der Stricht empfiehlt für den gleichen Zweck Doppelfärbung mit Safranin und Gentianaviolett.

Hatschek färbte die späteren Entwicklungsstadien mit Karmin und Pikrokarmin; Aufbewahrung entweder in Glycerin oder Balsam.

Joseph wandte für grössere Larven einfache Hämatoxylinfärbung mit Delafield'schem Hämatoxylin und Nachfärbung vermittelst der van Gieson-schen Pikrinsäure-Säurefuchsinmethode an.

Eine Färbung des Bindegewebes der Amphioxuslarven gelang Mac Bride nur an Osmiummaterial.

Bemerkt sei noch, dass bei Amphioxuslarven auch die vitale Färbung mit Methylenblau und Neutralroth mit Erfolg versucht worden ist.

Litteratur: Hatschek (Arb. zool. Inst. Wien, Bd. 4, 1881), Joseph (Arb. zool. Inst. Wien, Bd. 12, 1900), Kowalewsky (Mém. Acad. imp. Lc., St. Pétersbourg, VII. Sér., Bd. 11, 1867), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1867), Lankaster (Quart. Journ. mikr. Soc., Bd. 19, 1889), derselbe (Quart. Journ. mikr. Soc., N. S., Bd. 31, 1890), Mac Bride (ebenda, Bd. 40, 1898), Morgan and Hagen (Journ. Morph., Bd. 16, 1900), Sobotta (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), van der Stricht (Bull. Acad. roy. Belg., Sér. 3, Bd. 30, 1895), derselbe (Arch. Biol., Bd. 14, 1896). Willey (Quart. Journ. micr. Soc., Bd. 32, 1891).

b) Cyclostomata. Petromyzontidae.

1. Künstliche Befruchtung

ist bei Petromyzon leicht auszuführen. Nach dem Beispiele VEJDOVSKY's nahm HERFORT anfangs die »nasse« Befruchtung vor. Emaillirte flache Schüsseln wurden zur Hälfte mit Wasser gefüllt und in letzteres die Eier aus dem in ein Tuch gewickelten Rogner ausgestrichen. Während ein Assistent mit einem Glasstabe das Wasser mit dem frischabgestrichenen Rogen umrührte, setzte er die Milch hinzu, die schon bei schwachem Drucke auf die Bauchwände des Männchens in feinem Strahle hervorspritzt. Doch kam HERFORT zu der Erfahrung, dass auf diesem Wege viele Eier unbefruchtet bleiben, ein Uebelstand, welcher das Studium sehr erschwert, und empfiehlt daher die Vornahme der »trockenen« Befruchtung. (Siehe unten Knochenfische.) HERFORT gelang es nur, Gastrulastadien aufzuziehen, da ihm Saprolegnien die ganze Zucht vernichteten. VEJDOVSKY, welcher alle mit Saprolegnien befallenen Eier täglich beseitigte, glückte es dagegen, bis 4 Cm. lange Ammocoeten aufzuziehen.

KUPFFER und BENECKE operirten bei Vornahme der künstlichen Befruchtung in folgender Weise. In eine trockene Porzellanschale mit ebenem Boden wird an einer Stelle eine kleine Portion Eier aus einem reifen Weibchen entleert in genügender Entfernung von einander, um jede unmittelbare Berührung zu vermeiden. In dieselbe Schale wird aus einem bereit gehaltenen Männchen Sperma in entsprechender Menge ausgedrückt, die Schale dann nach der Seite hin, wo das Sperma sich befindet, geneigt, etwas Wasser auf das Sperma gegossen und nun die Schale nach der anderen Seite gekippt, die die Eier enthält. In dem Moment, wo das spermahaltige Wasser die Eier aufschwemmt, fasst man einige wenige derselben mit einem kleinen Löffel und bringt sie in die Mulde eines hohlgeschliffenen Objektträgers, legt das Deckgläschen darauf (was nie zu versäumen ist, da man mit schwachen Systemen von grösserem Abstande wenig ausrichtet) und bringt das Präparat zum Studium der Befruchtungserscheinungen unter ein vorher bereit gestelltes Mikroskop. Verfliesst zwischen dem Zeitpunkte der Berührung des spermahaltigen Wassers mit den Eiern und der Einstellung des Mikroskopes auf ein Ei mehr als eine halbe Minute, so kommt man in der Regel zu spät, um den einleitenden Vorgang der Befruchtung zu sehen.

In der freien Natur erhält man nach den obigen Autoren die befruchteten Eier am reinsten, wenn man in den Bächen, in welchen die Neunaugen in der Weise laichen, dass das Männchen sich am Genicke des Weibchens festsaugt, eine kleine Strecke stromabwärts von den laichenden Thieren einen Kätscher aus Gaze vorsichtig ins Wasser taucht; der Strom führt dann stetig befruchtete Eier hinein. Auch im Kies der Bäche findet man die Eier, die den Kiespartikelchen anhaften. Nach dem Laichgeschäft sterben die Mutterthiere.

2. Beobachtung am lebenden Objekt.

Die Entwicklung der befruchteten, 1 Mm. langen (Petromyzon fluviatilis), gelblich weissen, sehr klebrigen Eier lässt sich in einem flachen Uhrschälchen unter dem Mikroskop gut beobachten, und ist das Neunaugenei für das Studium der Befruchtungsphänomene geradezu ein klassisches Objekt. Die Klebrigkeit des Eies ist bei der Anstellung von Beobachtungen, besonders auch des Befruchtungsvorganges, sehr von Vortheil, da das Ei infolge davon in jeder wünschenswerthen Lage in dem Schälchen befestigt werden kann; auch wird die Lage des Eies daher durch Wasserströmungen nicht verändert. Zur Beobachtung des Befruchtungsvorganges

stellte Calberla zunächst unter dem Mikroskope die »äussere Mikropyle« eines in einem Uhrschälchen liegenden Eies ein und setzte dann einige Tropfen frisch ausgestrichenen, mit Wasser verdünnten Spermas hinzu unter Erzeugung eines Flüssigkeitsstromes im Gläschen, um die Spermien darin zu vertheilen.

3. Fixirung.

Herfort wandte mit Erfolg zur Fixirung der befruchteten Eier vom Rath's Pikrinosmiumplatinchlorid-Essigsäure, ferner Pikrinplatinchlorid-Essigsäure und Sublimateisessig an. Bisweilen war allerdings der Dotter zu bröckeligen Massen zusammengeschmolzen, so dass die Eier nicht geschnitten werden konnten. Herfort warnt davor, die Eier zu lange in absolutem Alkohol zu lassen, da anfangs sehr brauchbare Eier, welche lange in Spiritus aufbewahrt waren, sich dann als vollkommen unbrauchbar erwiesen.

v. Kupffer führte seine Untersuchungen an mit Flemming'scher Lösung eine halbe Stunde fixirten Embryonen aus, welche sodann in 30-, 70- und 90%igem Alkohol gehärtet waren. Die Behandlung mit 1%iger Osmiumsäure bewährte sich nicht, da die Eier damit bald zu brüchig wurden.

Ebenso verfuhr Böhm bei der Konservirung der Befruchtungsstadien von Petromyzon Planeri.

4. Färbung.

Böhm benutzte (für sein mit Flemming'scher Lösung fixirtes) Material Safranin und mit bestem Erfolge Violette de fuchsine (1 Grm. Farbstoff auf 100 Ccm. 30%igen Spiritus); Auswaschen der Schnitte in absolutem Alkohol. Nicht so günstige Resultate lieferten die vor dem Schneiden in toto mit Boraxkarmin gefärbten Eier. Herfort fand für das Studium der Befruchtungsvorgänge am vortheilhaftesten Eisenhämatoxylin und Delafield-sches Hämatoxylin (Nachfärbung mit Eosin), ferner Fuchsin und Safranin. v. Kupffer färbte seine mit Flemming'scher Lösung fixirten Neunaugenembryonen in toto mit Boraxkarmin; die Färbung mit Safranin war hier wegen der intensiven Färbung des Dotters wenig brauchbar.

Litteratur: Böhm (Sitz. Akad. Wiss. München, Bd. 17, 1887), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1888), Calberla (Zeit. wiss. Zool., Bd. 30, 1877), Herfort (Arch. mikr. Anat., Bd. 57, 1901), Kupffer und Benecke (Fest. Th. Schwann, Königsberg 1878), Kupffer (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), Aug. Müller (Schrift. phys.-ökon. Ges., Königsberg, 5. Jahrg., 1864), Nuel (Arch. Biol., Bd. 2, 1881), Owsjannikow (Mélanges biolog. tir. de Bullet. de l'Académ. impér. sc. Pétersbourg, Bd. 13, 1889), Max Schultze (Die Entwicklungsgeschichte des Petromyzon Planeri, Haarlem 1856, vergl. auch Abh. Nat. Ges., Halle, Bd. 3, Jahrg. 1855, Sitz. vom 12. Mai), Shipley (Quart. Journ. Micr. Sc., Bd. 27, 1887), Vejdovsky (Sitz. böhm. Ges. Wiss. Prag, 1893).

Myxinidae.

Die Eier der Myxinoiden sind länglich-cylindrisch, relativ gross (bei Bdellostoma im längsten Durchmesser 22 Mm. lang), dotterreich und von einer derben, an den beiden Eipolen mit einem Hakenapparat besetzten Schale umgeben. Am einen Ende ist an der Schale durch eine cirkuläre, dunklere Linie eine Art von Deckel begrenzt; dies ist der vordere Pol des Eies, an welchem sich das Kopfende des Embryos befindet. Die Eier werden in grösserer Tiefe auf dem Boden des Meeres abgelegt und sind schwer zu fischen; wenigstens gilt das für Bdellostoma. Von Myxine sind überhaupt erst ganz vereinzelt Eier gefunden worden.

Litteratur: Dean (Fest. Kupffer, Jena 1899), derselbe (Quart. Journ. micr. Sc., Bd. 40, 1898), Plate (Sitz. Ges. nat. Freunde Berlin, Jahrg. 1896), Price (Sitz. Ak. Wiss. München, Bd. 26, 1896), derselbe (Verh. anat. Ges. in Berlin, 1896).

c) Chondropterygii.

1. Beobachtung am lebenden Ei, Präparation.

His hat zuerst die Entwicklung des lebenden Selachierkeimes (Scyllium und Pristiurus) in der Weise direkt beobachtet, dass er die oberste trübe Schicht der hornigen Eischale wegschnitt. Hierdurch wird es möglich, fortlaufende Beobachtungsreihen lebender Keime dadurch zu gewinnen, dass man an durchsichtig gemachten Eiern bei gegebener (etwa 40facher) Vergrösserung täglich die Kontouren mittels der Kamera nachzeichnet und misst. Kastschenko kam zu demselben Ziel, indem er die oberflächliche, wenig durchsichtige Schicht der Eischale mit einem scharfen Messer abschabte; durch die innere durchsichtige Schicht der Schale kann man im Anfang der Furchung sogar die einzelnen Furchungszellen unterscheiden.

Nach Braus ist die Gewinnung der Embryonen aus dem Uterus lebendig gebärender Haifische (Spinax niger) nicht immer ganz leicht, da die Eier in dem stark gedehnten Uterus unter solchem Druck stehen, dass sie beim Oeffnen des Uterus plötzlich ausgepresst und, wenn die Oeffnung im Uterus zu klein ist, meist zerstört werden. Braus schützte sich dagegen durch einen einfachen Handgriff, indem er den Fisch auf eine schräg stehende Unterlage brachte und mit schnellem Scheerenschlage eine möglichst grosse Oeffnung an der obersten Stelle des Uterus einschnitt. Die Schwerkraft wirkt dann den Kontraktionen der Uteruswand soweit entgegen, dass die Eier langsamer herausgepresst werden und die Embryonen einzeln abgehoben werden können.

2. Fixirung und Färbung.

Nach Mayer gelingt die Fixirung der Selachierkeimscheiben und Embryonen recht gut in gesättigter wässeriger Sublimatlösung ohne oder besser noch mit 5% Eisessig. Nach der Fixirung ganz kurze Wasserspülung; Härtung in Alkohol von 50-, 70- und 90%. In letzterem werden die Stücke auch mit Jodjodkalium behandelt. Nach der Sublimatfixirung Durchfärbung mit Boraxkarmin, Hämalaun oder Karmalaun. Gegenfärbung der Schnitte mit Eosin, Orange G oder Lichtgrün.

Damit die älteren Embryonen sich möglichst gerade strecken (für Längsschnitte!), schiebt Mayer die Embryonen, während sie gerade im Sterben begriffen sind, mit einem Pinsel oder Hornspatel vorsichtig mit dem Schwanz voran in den keilförmigen Raum zwischen zwei in der Schale mit der Sublimatlösung bereitliegenden Glasklötzen bis etwa zur Kiemenregion hinein.

Rabl empfiehlt Sublimatpikrinsäure, Platinchloridsublimatlösung und Platinchloridpikrinsäure.

Braus fixirte Embryonen von Spinax mit Zenker'scher Flüssigkeit, daneben auch mit Eisessigsublimat, Sublimatpikrinessigsäure und Formolgemischen. Die Serien wurden mit Hämatoxylin und Eosin oder Congoroth gefärbt.

Zur Aufhellung älterer Embryonen erwies sich Glycerin mit Zusatz einer Spur von Kalilauge als nützlich.

Rückert schnitt zum Studium der Befruchtungs- und Furchungserscheinungen bei Torpedo, Pristiurus und Scyllium die Keimscheibe mit einem Stück des umgebenden Dotters aus dem Ei heraus und legte sie auf einer Unterlage von Fliesspapier in die Fixirungsflüssigkeit. Als letztere diente gesättigte Sublimatlösung in Aq. dest. mit oder ohne Zusatz von 5% Eisessig. Stückfärbung mit Boraxkarmin und mehrtägiges Ausziehen des Farbstoffes in 70%igem Alkohol mit 1% Salzsäure.

Litteratur: Braus (Morph. Jahrb., Bd. 27, 1899), His (Arch. Anat. Phys., Jahrg. 1897), Kastschenko (Anat. Anz., 3. Jahrg., 1888), Lee und Mayer (Technik, II. Aufl., 1901), Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Rückert (Fest. Kupffer, 1899), Swaen (Arch. Biol., Bd. 7, 1887), H. E. Ziegler (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892).

d) Teleostei, Dipnoi, Ganoidei.

1. Künstliche Befruchtung und Beobachtung am lebenden Objekt.

Bei der künstlichen Befruchtung der Fische, speciell der Knochenfische, wird nur noch das »trockene« Verfahren geübt, da in Wasser die Spermien sehr bald absterben und bei dem »nassen« Verfahren viele Eier unbefruchtet bleiben.

Rogen und Milch lassen sich von dem Fisch leicht abstreichen. Man fasst den Fisch mit der linken Hand am Kopf, um welchen ein Tuch geschlagen ist, und streicht mit der rechten Hand den abwärts gewandten Bauch des Fisches, den Daumen oben, den Zeigefinger unten von den Brustflossen nach dem Schwanze zu, sanft und ohne Druck ab, so lange bis man fühlt, dass die Bauchhöhle von Eiern geleert ist. Man darf nur so lange abstreichen, als kein Blut kommt. Die Eier werden in einer unter der Aftergegend des Fisches stehenden reinen Porzellanschüssel aufgefangen. Bei grossen Fischen muss noch eine zweite Person den gleichfalls in ein Tuch eingeschlagenen Fischschwanz halten. Bei dem Milchner verfährt man genau ebenso. Die Milchner kann man mehrmals zum Abstreichen gebrauchen. Bei manchen, z. B. dem Stichling, muss man aber den Milchner tödten, den Hoden herausschneiden und zerzupfen, um das Sperma zu gewinnen.

Zum Zwecke der Befruchtung giesst man die abgestrichene Milch (am besten von zwei oder mehreren Männchen) auf die frisch entleerten, in der Schüssel ohne Wasser befindlichen Eier. Nun neigt man die Schüssel ein wenig hin und her, damit die Milch möglichst mit den Eiern in Kontakt tritt, giebt dann ein wenig reines Wasser hinzu und rührt vorsichtig einige Minuten mit der Fahne einer Hühner- oder Entenfeder die Eier etwas durcheinander unter weiterem Zugiessen von Wasser; das letztere thue man aber nicht direkt auf die Eier, sondern rings auf den Rand der Schüssel, so dass es an der Schüsselwand herabläuft. Das milchige Wasser giesst man nun allmählich ab, indem man neues reines hinzusetzt, so lange, bis die Eier in völlig klarem Wasser schwimmen. Die so befruchteten Eier kommen zur Weiterentwicklung in einen Brutapparat mit fliessendem Wasser. Frisch abgestrichene Eier und Sperma, in eine verschlossene Flasche gebracht, bleiben 6—8 Tage befruchtungsfähig. (Vergl. Paul Vogel, Ausführliches Lehrbuch der Teichwissenschaft, Bauzen 1898, Ergänzungsband dazu 1900.)

An den befruchteten, aus dem Brutkasten herausgenommenen und in kleine Uhrschälchen oder hohl geschliffene Objektträger gesetzten Eiern und Embryonen lässt sich die Weiterentwicklung mit der Lupe und unter dem Mikroskope am lebenden Objekt verfolgen. Um ältere Embryonen noch lebensfrisch zu untersuchen, werden dieselben ohne Weiteres durch Zerreissen der Eischale freigelegt, vom Dotter befreit und bei durchfallendem Licht beobachtet. Ihre ausserordentliche Durchsichtigkeit erleichtert ihre Beobachtung.

Ein sehr günstiges Objekt für diese Untersuchung ist das glashelle, durchsichtige Ei von Belone, nachdem die Fäden, welche von seiner Eihülle entspringen, zuvor abgeschnitten sind. Wenckebach brachte die Eier auf einen tiefausgeschnittenen Objektträger mit Seewasser und legte dann ein ganz dünnes Deckgläschen darauf; dann war es möglich, die Entwicklungsvorgänge am lebenden Ei mit ziemlich starker Vergrösserung zu studiren. Nach Kopsch ist bei den Untersuchungen des Belone-Eies der Umstand er-

schwerend und störend, dass bei normaler Stellung des Eies die Keimscheibe unten liegt. Dieser Autor benutzte daher das ZIEGLER'sche Kompressorium, in welchem er in einer bestimmten Stellung sich normal entwickelnde Belone-Eier tagelang lebend erhalten konnte. (H. E. ZIEGLER, Ein Kompressorium mit Durchströmung. Zool. Anz., Bd. 17, 1894.)

ZIEGLER beobachtete in gleicher Weise die Furchung am ganz durchsichtigen Labrax-Ei. An dem gleichen (Belone) und ähnlichen lebenden Objekten ist auch die Entwicklung der Cirkulation zu studiren.

2. Fixirung und Färbung.

Bei den Eiern von Knochenfischen, z. B. den oft untersuchten Salmoniden, machen die derbe Eihaut und der Dotter bei der Konservirung und besonders bei dem Schneiden Schwierigkeiten.

Der Dotter wird infolge der Fixirung und Härtung steinhart, so dass er nur sehr schwer geschnitten werden kann, während die gleichfalls hart werdende Eihaut sich nach der Fixirung in der Regel von dem Keime ohne dessen Verletzung nicht mehr abheben lässt. Es empfiehlt sich daher, Dotter und Eihaut möglichst früh zu entfernen; dabei ist zu beachten, dass der frische Dotter in Wasser gerinnt, bei der Präparation also Wasserzusatz zu vermeiden ist.

BÖHM, welcher zur Fixirung der Befruchtungsstadien (Forelleneier) theils die BOVERI'sche Flüssigkeit, theils Sublimateisessig benutzte (in letzterem nur circa $^3/_4$ Stunden), hat empfohlen, die den Keim tragende Eikalotte möglichst früh nach der Fixirung mit einem scharfen Rasirmesser abzutragen.

KOLLMANN verfuhr in der Weise, dass er die Eier in eine Flüssigkeit von der Zusammensetzung: Kalibichromalaun 5%, Acid. chrom. 2% und Acid. nitricum conc. 2% auf 12 Stunden brachte, dann ebenso lange in Wasser spülte und dann erst die Eischale entfernte; darauf Ueberführung in Alkohol von 70%.

RABL-RÜCKHARD wandte bei Salmoniden folgendes Verfahren an. Die Eier wurden möglichst kurze Zeit ($^1/_4$ Stunde) in 10%iger Salpetersäure koagulirt. Sobald der Embryo hinreichende Konsistenz erhalten, was an seinem Weisswerden und dem Durchscheinen durch die Eihülle zu erkennen ist, wird die Eischale mit spitzen Pincetten zerrissen und der freipräparirte Embryo noch eine Stunde in der Salpetersäure gehärtet. Wendet man diese Vorsicht nicht an, so wird das zarte Gebilde durch die sich zusammenziehende Eischale abgeplattet und verunstaltet. Dies gilt auch von der längeren Wirkung der ebenfalls benutzten Chromsäure (1—0,3%); der Kopf der Embryonen erscheint dann je nach der Lage, in der diese abgestorben, durch Druck deformirt. Nach mehrstündiger Neutralisation in 1—2%iger Alaunlösung werden dann die Embryonen in schwachem, schliesslich in absolutem Alkohol gehärtet. Zum Studium der Oberflächenbilder empfiehlt RABL-RÜCKHARD starke künstliche Beleuchtung des in einem schwarzen Glasnäpfchen liegenden Embryos von oben durch eine grosse Sammellinse.

GORONOWITSCH hat dieses Verfahren etwas modificirt, indem er 5%ige Salpetersäure nahm und die Eier etwa 3 Minuten darin liegen liess. Länger darf das Ei in der Lösung nicht liegen, damit der Dotter nicht gerinnt. Dann übertrug er das uneröffnete Ei in eine Alaunlösung von etwa 5%, worin nach einer Stunde der Dotter ganz durchsichtig erschien, während nur der Embryo weiss hindurchschimmerte. In derselben Alaunlösung wurde sodann das Ei halbirt, weil die Alaunlösung im Ueberschuss die Dottermasse auflöst, was den grossen Vortheil hat, dass der Embryo sich nicht mit den äusserst störenden weissen Flocken geronnenen Dotters bedeckt, wie es beim Arbeiten mit anderen Reagentien, ausser Pikrinschwefelsäure,

geschieht. Sogar sehr verdünnter (40%iger) Alkohol bringt junge Keimscheiben schon zur Schrumpfung. Das Aufbewahren solcher Keimscheiben gelingt schwer; am besten empfiehlt sich, behufs Anfertigung späterer Zeichnungen, die Aufbewahrung in 10%igem Glycerin.

Zum Erhärten der Schnittserien benutzte GORONOWITSCH KLEINENBERG-sche Lösung, worin der Embryo 3 Stunden verblieb, dann Nachbehandlung mit 40-, 70- und 90%igem Alkohol.

Auch GORONOWITSCH legt besonderes Gewicht darauf, dass die Eihülle möglichst schnell vom Embryo abgelöst wird. Beim Konserviren mit KLEINENBERG'scher Flüssigkeit wurde diese Operation gewöhnlich 10 Minuten nach dem Einlegen vorgenommen. Das Ablösen gelingt in KLEINENBERG'scher Flüssigkeit besser als an Chromsäurepräparaten, da jene Lösung im Anfange ihrer Wirkung den Dotter nicht koagulirt.

HENNEGUY verwirft die Chromsäurefixirung, weil dadurch der Dotter zu stark gehärtet und brüchig wird. Dieser Autor wandte zwei Methoden an: Die eine besteht darin, dass die Eier zuerst in eine $^{1}/_{100}$%ige Lösung von Osmiumsäure kommen, bis sie eine braune Farbe angenommen haben. Alsdann werden sie in MÜLLER'scher Lösung mit zwei feinen Pincetten von der Eihaut befreit und darin einige Tage gelassen. Nach Wasserspülung Härtung in Alkohol. Dieses Verfahren eignet sich nur für erste Stadien, nicht für weiter entwickelte Embryonen. Um die letzteren zu fixiren, bringt HENNEGUY die Eier für 10 Minuten in KLEINENBERG'sche Flüssigkeit, zu welcher 10% Eisessig hinzugesetzt sind. Sodann werden die Eier in 10%iger Essigsäure, worin der Dotter löslich ist, an dem dem Embryo entgegengesetzten Ende eröffnet und der Embryo herauspräparirt. Der letztere wird darauf in reine KLEINENBERG'sche Flüssigkeit für einige Stunden gelegt, sodann in Alkohol von 60, 75 und 90%. Diese Methode giebt die besten Resultate, weil sie nicht allein die Form, sondern auch die Zellen und Mitosen konservirt.

Zur Stückfärbung benutzte HENNEGUY Boraxkarmin und Hämatoxylin, für Schnittfärbung Safranin, Gentianaviolett etc.

Zum Studium der äusseren Körperform empfiehlt HENNEGUY mit Chromsäure fixirte und von der Eikapsel und dem Dotter befreite Embryonen mit Karmin zu färben und in Balsam einzuschliessen.

Um die Gewebe für die histologische Untersuchung vorzubereiten, erwies sich HARRISON eine gesättigte Lösung von Sublimat in 5%iger Essigsäure am geeignetsten; zur Färbung diente DELAFIELD'sches Hämatoxylin mit nachfolgender Pikrinsäurebehandlung.

BÖHM und OPPEL empfehlen gleichfalls Sublimateisessig: 80 Ccm. wässeriger Sublimatlösung und 20 Ccm. Eisessig lässt man $^{1}/_{2}$—$^{3}/_{4}$ Stunden einwirken und bringt dann die Eier in 70%igen Alkohol, worauf nach einer Stunde die Keime mit einem Rasirmesser abgeschnitten werden. Man darf zur Aufbewahrung nicht stärkeren als 85%igen Alkohol anwenden.

Nach FELIX sind die Teleostiereier je nach dem Grade der Entwicklung verschieden zu behandeln.

Von dem ersten Tage nach der Befruchtung bis zu dem Stadium, in welchem der Embryo seinen Schwanz zu krümmen beginnt, werden die ganzen Eier ohne eine vorherige Präparation in Sublimateisessig (koncentrirte wässerige Sublimatlösung 80 Theile, Eisessig 20 Theile) 45 Minuten lang fixirt. 5 Minuten nach dem Einlegen wird die Flüssigkeit gewechselt. Härtung in von 30—80% steigendem Alkohol. Manchmal ist allerdings infolge starker Schrumpfung der Eihaut der Kopf etwas zusammengedrückt. Nach vollendeter Nachhärtung — gewöhnlich am anderen Tage — werden die Embryonen mit Nadeln abpräparirt. Färbung mit Boraxkarmin, Nachfärbung mit Jodgrün (2 Grm. Jodgrün in 100 Ccm. 50%igen Alkohols). Vor

der Jodgrünfärbung muss die Säure, die infolge der Nachbehandlung mit Säurealkohol im Embryo geblieben ist, sorgfältig durch Auswaschen in 70%igem Alkohol entfernt werden. Im Jodgrün bleiben die Embryonen 12—24 Stunden und kommen dann in 70%igen Alkohol, in welchem sie so lange verweilen, bis unter der grünen die rothe Farbe wieder zum Vorschein kommt.

Beginnt der Embryo sich auf dem Dotter zu strecken, so muss er frisch herauspräparirt werden, und zwar in physiologischer Kochsalzlösung, damit bei einer Verletzung des Dottersackes und dadurch bedingtem Austritt des Dotters der letztere nicht gerinnt. Der frei präparirte Embryo wird in Zenker'scher Flüssigkeit fixirt. Ganze Eier in Zenker'scher Flüssigkeit zu fixiren, ist nicht rathsam, weil unter der Einwirkung dieser Flüssigkeit der Dotter jedesmal zersprengt und damit gewöhnlich der Embryo verletzt wird. Um ein sich Krümmen des herauspräparirten Embryos zu verhindern, übertrug Felix die lebenden Embryonen auf einem Hornspatel in die Zenker'sche Flüssigkeit und tauchte zunächst den Kopf und nach und nach das ganze Thier ein.

Sind die Forellen- und Lachsembryonen ausgeschlüpft, so soll man sie nach Felix nicht mit dem Dotter fixiren. Einmal dringt die fixirende Flüssigkeit viel schwerer ein und es werden die Theile des Embryos über dem Dotter schlecht fixirt, andererseits wird bei der Entfernung des fixirten Dotters — der bei Paraffineinbettung ein Schneiden unmöglich macht — regelmässig die Leber verletzt. Oeffnet man aber den Dottersack in 0,75%iger Kochsalzlösung und lässt das Thier noch eine Weile in demselben herumschwimmen, so wird der Dotter bis auf den letzten Tropfen entfernt.

Ist der Dottersack scheinbar verschwunden, so liegt doch noch eine beträchtliche Menge vom Dotter in der Leibeshöhle (bei dem Lachs verschwindet der Dotter erst gegen Ende des dritten Monats nach dem Ausschlüpfen) und kann ein Schneiden unmöglich machen; der Dotter muss daher durch Oeffnen des Bauches entfernt werden. Felix verfuhr so, dass er die Thiere erst in Zenker'scher Flüssigkeit abtödtete, in Kochsalz öffnete und dann mit einem Pinsel den Dotter entfernte.

Die obigen Methoden, welche von mir der Vollständigkeit wegen aufgeführt sind und welche für diesen oder jenen Zweck nützlich werden können, werden übertroffen durch das Präparationsverfahren, welches H. Virchow zuerst für Teleostiereier ausgebildet und Kopsch näher beschrieben hat, und welches ermöglicht, Dotter und Keim völlig voneinander zu trennen und die sämmtlichen Dotterelemente schon während der Konservirung zu entfernen. Dasselbe giebt gleich ausgezeichnete Resultate für das Studium der Oberflächenbilder wie für die mikroskopische Untersuchung.

Dieses Verfahren besteht in einer Vorfixirung und einer Nachbehandlung, für welche letztere die verschiedensten Flüssigkeiten benutzt werden können. Die erstere wird immer ausgeführt vermittelst einer Chromessigsäure, welche aus Chromsäure 2,0 Grm., Aqua destillata 900,0 Ccm., Acid. acet. glaciale 100,0 Ccm. zusammengesetzt ist.

In 30 Ccm. dieser Mischung (in einer weitbalsigen Flasche) bringt man auf 5—10 Minuten 5—10 Eier. Es empfiehlt sich, das Gefäss wiederholt schonend hin und her zu bewegen, damit die Eier von allen Seiten mit der Flüssigkeit in Berührung kommen.

Die Einwirkungsdauer beträgt 10 Minuten für junge Stadien bis zur halben Umwachsung des Dotters; von diesem Stadium an immer weniger, so dass für Embryonen bei Dotterlochschluss 5 Minuten ausreichend sind. Nach genügender Einwirkung der Vorfixirungsflüssigkeit werden die Eier in eine Chromsäurelösung 2 : 1000 Wasser gebracht und möglichst sofort

weiter verarbeitet, indem man das einzelne Ei, dessen Keimscheibe man gewinnen will, in ein Schälchen mit 0,7—1%iger Kochsalzlösung bringt und die Eischale in schonender Weise entfernt. In dieser Kochsalzlösung bleibt der durch die Vorfixirung nicht geronnene Dotter vollständig flüssig und kann mittels einer Pipette oder besser eines feinen, spitz ausgezogenen Röhrchens, in welches man die Kochsalzlösung saugt, durch Abblasen von der Unterseite der Keimscheibe entfernt werden. Darauf wird die Keimscheibe mittels eines Löffelchens, in dessen Höhlung schwimmend, in die gewünschte Nachbehandlungsflüssigkeit übertragen. Am besten zur Erhaltung und Sichtbarmachung des Reliefs haben sich nach Kopsch erwiesen die koncentrirte wässerige Sublimatlösung und die Chromosmiumessigsäure. In ersterer genügt ein Aufenthalt von 2 Stunden, darauf Behandlung mit Jodalkohol u. s. w. Bei der Fixirung mittels der Chromosmiumessigsäure ist ganz besonders auf sorgfältiges, lang andauerndes Auswaschen Gewicht zu legen. Die Keime dunkeln sehr stark nach. Die deutlichsten Oberflächenbilder erhält man bei Anwendung der letztgenannten Fixirungsflüssigkeit, doch sagt Kopsch mit Recht, dass man nach einiger Uebung auch an den mit Sublimat fixirten Embryonen alle Einzelnheiten ebenso deutlich erkennen kann.

Um die nach dem obigen Verfahren gewonnenen Oberflächenpräparate von Salmoniden zu färben, legte er sie auf 24 Stunden in eine frisch bereitete Mischung aus Boraxkarmin 1 Theil und salzsaurem Alkohol 10 Theile (Alkohol 70% und 1% Acid. hydrochloricum). Bei Ueberfärbung Auswaschen in salzsaurem Alkohol.

Behrens benutzte diese Methode auch zur Präparation der Befruchtungsstadien von Forelleneiern. Behrens eröffnete nach der oben geschilderten Vorbehandlung die Eier auf der dem Keime abgewandten Seite in Kochsalzlösung und entfernte den Dotter durch »Abblasen«, bis die Unterfläche des Keimes völlig sauber war. Der letztere löste sich dann von selbst von der Schale los. Auf diese Weise erhält man nicht allein den losgelösten Keim mit dem unter ihm gelegenen, von Oelkugeln durchsetzten Protoplasma, sondern auch das in der Peripherie desselben gelegene, den Dotter bedeckende Protoplasmahäutchen in grosser Ausdehnung.

Behrens macht darauf aufmerksam, dass die befruchteten Eier nicht länger als $1\frac{1}{2}$ Stunden in der Chromsäure verweilen dürfen, weil sonst der Keim nicht mehr durch die Schale hindurch vom Dotter zu unterscheiden und auch schwer von ihm zu trennen ist.

Der losgelöste Keim wurde von Behrens etwa 3 Stunden in Pikrinsublimat (gesättigte wässerige Pikrinsäure 1 Vol., Sublimat, ges. wässerig 1 Vol., Aq. dest. 2 Vol.) fixirt und dann in 50- und 70%igen Spiritus übergeführt, alsdann in Alk. abs., Chloroform und Alk. abs., Chloroform, Chloroformparaffin und auf höchstens $\frac{1}{2}$ Minute in reines Paraffin. Die Einbettung geht sehr schnell vor sich, da der Keim ohne Dotter leicht vom Paraffin durchtränkt wird.

Die Schnittserien werden mit Eisenhämatoxylin gefärbt, mit oder ohne Vorfärbung mit Bordeaux. Die Richtungskörperchen bleiben trotz Entfernung der Schale doch meist an der Oberfläche des Keimes haften.

Blanc benutzte zum Studium der Befruchtungserscheinungen folgende Mischung: 600 Vol. Wasser, 2 Vol. koncentrirter Schwefelsäure, 100 Vol. koncentrirter Pikrinsäure, 8 Vol. Eisessig.

Darin verbleiben die Eier mehrere Stunden und werden darauf in 10%iger Essigsäure geöffnet, worin auch der Keim abpräparirt wird.

Dasselbe Fixirungsmittel wandte His bei seinen Zellenstudien am Forellenkeim mit Erfolg an (Färbung mit Eisenhämatoxylin).

Für ältere Teleostierembryonen empfiehlt Rabl heisse Lösung von Platinchloridsublimat, um Rupturen der Muskeln und das Schrumpfen der Chorda zu verhindern.

Ueber die Fixirung pelagischer Fischeier siehe Mayer, § 598, pag. 308 bis 309.

Litteratur: Behrens (Anat. Hefte, Heft 32, 1898), Blanc (Fest. für Weissmann zu seinem 70. Geburtstage gewidmet. Ber. Nat. Ges., Freiburg, 4. Anfl., Bd. 8, 1894), Böhm (Sitz. Ges. Morph. u. Phys. München, Bd. 7, 1891), Böhm und Oppel (Taschenbuch), Felix (Anat. Hefte, Bd. 7, Heft 3), Goronowitsch (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1885), Harrison (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1885), Henneguy (Journ. de l'anat. phys., 24. année, 1888), derselbe (ebenda, 27. année, 1891), His (Abh. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 24, 1898), Kollmann (Arch. Anat. Phys., 1885), Kopsch (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1898), derselbe (Int. Monat. Anat. Phys., Bd. 18, 1901), derselbe (Int Monat. Anat. Phys., Bd. 16, 1899), Mayer und Lee (Technik, II. Anfl., 1901), Rabl (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), Rabl-Rückhard (Arch. Anat., Jahrg. 1882), Salensky (Arch. Biol., Bd. 2, 1891), Semon (Zool. Forschungsreisen in Australien und dem mal. Archipel, Bd. 2, Wiesbaden 1901), Swaen et Brachet (Arch. Biol., Bd. 16, 1899), Wenckebach (Arch. mikr. Anat., Bd. 28, 1886), Ziegler (Anat. Anz., Bd. 12, 1896), Ziegenhagen (Verh. anat. Ges. Berlin, 1896).

B. Amphibien.

1. Künstliche Befruchtung. Beobachtung am lebenden Objekt.

Bei Amphibien ist die künstliche Befruchtung leicht auszuführen und schon oft geübt worden.

Hierzu eignen sich von den deutschen Batrachiern Rana esculenta, Rana fusca, Bombinator igneus und die Bufoarten. Bei Rana esculata müssen die reifen Eier aber schon bei der Gefangennahme im Uterus des Weibchens sein, da sie in der Gefangenschaft nicht reifen, während dagegen bei Rana fusca die Reifung der Eier unter der Umarmung des Männchens auch in der Gefangenschaft eintritt.

Roux empfiehlt, für die Vornahme der künstlichen Befruchtung bei Rana fusca folgendermassen zu verfahren. Die gefangenen Paare werden getrennt und Männchen und Weibchen in verschiedene Körbe mit feuchtem Moos verpackt, um die Laichung zu verzögern, so dass man länger Versuchsmaterial hat, wie es schon Pflüger und Born angerathen haben. Damit diese Männchen aber wieder Samen bilden, werden sie am Tage vor ihrer Verwendung in einem Glase mit etwa 2 Cm. hohem Wasserstand zum Weibchen gesetzt, am besten 3 Männchen und 2 Weibchen.

Man zerschneidet nun nach der Dekapitation und Zerstörung des Rückenmarkes des brünstigen Frosches die Hoden desselben in einer flachen Schale mit Wasser und giesst die gewonnene Flüssigkeit in eine frische Schale ab, um den Bodensatz zu entfernen; oder, wenn die Samenblasen prall mit der trüben, milchigen Samenflüssigkeit gefüllt sind, entleert man nur diese in das Wasser. Von dieser Samenflüssigkeit wird etwas in eine flache Schale mit ebenem Boden gethan, deren Boden etwa 2 Mm. hoch mit Wasser bedeckt wurde und umgerührt.

Danach werden dem dekapitirten Weibchen die vorderen und seitlichen Bauchwandungen und der Darm ausgeschnitten und der Uterus vorsichtig ohne Quetschung der Eier mit der Scheere weit geöffnet. Darauf entnimmt man ihm mit einem trockenen Spatel eine Anzahl Eier und bringt sie in die Schale unter mittelrascher Bewegung, wobei sich die Eier zu einer einfachen Lage ausbreiten. Um leicht auftretenden, späteren Verschimmelungen vorzubeugen, räth Roux, nach 6—10 Minuten den Samen abzugiessen, darauf die Eier mehrmals mit aufgegossenem Wasser abzuspülen und schliesslich Wasser bis doppelt so hoch, als die Eier zur Zeit sind, hinein zu thun. Darauf werden die infolge von Quellung der Gallerthüllen bei festem Haften

am Boden des Gefässes sich pressenden Eier mit einem biegsamen Mikroskopirspatel vom Boden abgelöst, damit sie sich ausbroiten können.

Nach $2\frac{1}{2}$—3 Stunden beginnt an den im Zimmer stehenden Eiern die erste Furchung, $\frac{1}{2}$ Stunde nach der orsten die zweito.

Will man die Thiero am Lebon orhalten, so kann man dio Eier in ähnlicher Weise wie bei den Fischen auch ausdrücken und in einem Uhrschälchen einzeln vermittelst eines Pinsols oder einer Pipette mit etwas Sperma benetzen.

Zur Beobachtung muss nach der Befruchtung die zähe Gallertschicht. welche im Wasser bald quillt, sobald als möglich abgestreift werden.

Auch bei den Urodelen lässt sich die künstliche Befruchtung vornehmon. O. Hertwig schildert diese Procedur bei Triton taeniatus folgendermassen. Eine grössere Anzahl frisch eingefangenor männlicher und weiblicher Tritonen wird getödtet. Die Ovidukte eines Weibchens, welche gewöhnlich 10 reife, von Gallerthüllen umgebene, aber noch unbefruchtete Eier bergen. werden in einem Uhrschälchen in kleine Stücke zerschnitton, aus welchen die Eier gewöhnlich durch Kontraktion der Eileiterwandung von selbst herausgepresst, andernfalls mit Nadeln vorsichtig herausgezogen werden. Man befeuchtet die Eier nun mit einigen Tropfen einer 1%igen Kochsalzlösung oder des Serums der Bauchhöhle des Tritonen oder verdünnten Humor aqueus eines beliebigen Wirbelthieres, in welchen Flüssigkeiten die Spermien längere Zeit lebensfrisch bleiben, und bringt sie, wenn man 20 bis 30 Stück in einem Uhrschälchen gesammelt hat, mit dem Sperma in Berührung. Um das letztere zu gewinnen, wird von einem Männchen das vom Mai bis Juli mit Samen angefüllte Vas deferens freigelegt und in einem Uhrschälchen in kleine Stücke zerschnitten. Das Sperma lässt man über den Eiern ausfliessen. Man muss dafür sorgen, dass die Samenflüssigkeit überall eindringt, sei es durch öfteres Schütteln des Uhrschälchens oder noch besser dadurch, dass man mit einem in eine kapillare Spitze ausgezogenen Glasröhrchen das Sperma aufsaugt und tropfenweise über die einzelnen Eier wieder entleert. Darauf bleiben die Uhrschälchen etwa $\frac{1}{2}$ Stunde in einer feuchten Kammer stehen und werden zuletzt in eine Schale mit Wasser gesetzt, in welcher nun die weitere Entwicklung ungestört von statten geht. In wenigen Stunden kann man auf diese Weise in verschiedenen Uhrschälchen an hundert Eier befruchten, dio sich nahezu gleichzeitig entwickeln. Nur bei einem sehr geringen Bruchtheil der Eier hatte O. Hertwig nach diesem Verfahren keine Befruchtung erzielt. Pathologische Bildungen können durch diese künstliche Befruchtung begünstigt werden.

Eycleshymer präparirte zum Studium der Entwicklungsvorgänge am lebenden Ei von Amblystoma die Hüllen ab, indem er die Gallertmasse mit der Pincette anfasste und stückweise mit einer Scheero abschnitt. Die von den Hüllen befreiten Eier wurden unter der Lupe oder dem Mikroskop in einem Uhrschälchen untersucht, welches auf einen Planspiegel gestellt war: es gelingt so, die Veränderungen an don beiden Polen des Eies zu sehen. ohne die Lage der Eier zu ändern (vergl. oben Pflüger's Methode).

Braus schnitt von Tritonen-Eiern (Triton alpestris) mit einem möglichst scharfen Rasirmesser eine möglichst grosse Kuppe der ovalen Gallerthüllen durch ziehende Bewegung des Messers ab. Als Führung für dio ebene Seite des plankonkaven Messers benutzte Braus eine feine Insektennadel, mit welcher er die Gallerthüllen des Eies mit einem kurzen Ruck durcbstach, um die Nadel dann tief in ein Stück Klemmleber zu bohren, auf welches er vorher das Ei mit dem anhaftenden Blatt oder Stengelstück gelegt hatte. Dio Insektennadel hat den weiteren Vortheil, das Ei ganz an die Peripherie des Zwischenraumes zwischen ihm und der Gallertkapsel zu drängen, der von einer serösen Flüssigkeit erfüllt ist. Das Ei liegt. wonn

der Schnitt gelungen ist, sehr oft frei auf dem Leberstück und kann durch Eintauchen des letzteren in jede gewünschte Flüssigkeit ohne Verletzung übergeführt werden, sei es nun zur Untersuchung des lebenden Objektes oder zur Fixirung.

Wenn man Froschlaich unter den aufrecht stehenden Tubus des Mikroskopes bringt, so sieht man die in den Gallertkugeln des Laiches befindlichen Embryonen immer nur in der Rückenansicht, weil die an der Bauchseite befindliche Masse der Dotterzellen sich stets nach unten kehrt. Fr. Ziegler legte deshalb, um die Entwicklungsvorgänge der Kopf- und Aftergegend direkt beobachten zu können, den Tubus des Mikroskopes horizontal, nahm den Schlitten mit der Blendung aus dem Objekttisch heraus, füllte eine kleine Menge des Laiches in ein dünnwandiges, 2,5 Cm. weites Glasrohr (Reagensglas), brachte dasselbe hinter das Loch des Objekttisches und beobachtete die Embryonen mittels einer grossen Beleuchtungslinse mit Gaslicht oder direktem Sonnenlicht. Bei dieser Methode wird es möglich, Entwicklungsvorgänge, wie z. B. den Schluss des Blastoporus, in den successiven Stadien mit einem schwachen System kontinuirlich zu verfolgen.

2. Präparation, Fixirung und Färbung.

Da die Eier der Amphibien von einer dicken, mehrschichtigen, im Wasser alsbald nach der Eiablagerung quellenden Gallerthülle umgeben sind, muss diese Hülle zur Gewinnung der Eier und Embryonen sobald als möglich entfernt werden. Dass dies möglichst bald geschieht, wo möglich noch vor der Einwirkung der Fixirungsflüssigkeit, liegt im Interesse der feineren histologischen Fixirung. Bei der Fixirung des Amphibieneies ist weiterhin der Uebelstand zu beachten, dass der Eidotter sehr leicht hart und brüchig wird, so dass das Mikrotomiren erschwert, selbst unmöglich gemacht wird. Das letztere tritt besonders bei Einwirkung der Chromsäure ein, in welcher sich durch Schütteln die Gallerthüllen aber bald lockern und mit Pincetten leicht entfernen lassen. Um das Brüchigwerden des Dotters zu verhindern, ist es gut, die frischen Eier möglichst kurze Zeit der Einwirkung des starken Alkohols, der Zwischenmittel und vor allem des heissen Paraffins auszusetzen. Carnoy brachte daher die Betrachiereier aus 80%igem Alkohol für $^1/_4$ Stunde in 95%igen Alkohol und darauf 5 Minuten in absoluten Alkohol. Sodann wurden die Eier in eine Mischung von Chloroform und absolutem Alkohol, und sobald sie darin untergesunken waren, in reines Chloroform gebracht, worin sie bis 15 Minuten verblieben. Dann wurde zu dem Chloroform Paraffin hinzugesetzt und das Gefäss $2^1/_2$—3 Stunden einer Temperatur von 35—36° C. ausgesetzt, worauf die Eier zum Schluss auf höchstens 5 Minuten in Paraffin mit dem Schmelzpunkt 52° C. kamen.

Nach Adler's Erfahrungen ist es hauptsächlich ein zu langer Aufenthalt im heissen Paraffin, welcher die Amphibieneier brüchig macht. In absolutem Alkohol, Chloroform und Chloroformparaffin können sie Tage lang verbleiben, dürfen dagegen nur bis höchstens 30 Minuten im definitiven, geschmolzenen Paraffin verweilen.

Die Fixirung kann vor oder nach der Entfernung der Gallerthüllen vorgenommen werden. Die Entfernung der Gallerthüllen von dem frischen Ei wird vermittelst feiner Scheeren und Nadeln ausgeführt, ist indessen sehr zeitraubend und mühsam und führt auch nicht selten zu einer Verletzung des Eies. Es ist daher ohne Zweifel vortheilhafter, erst die Fixirung vermittelst leicht eindringender Reagentien vorzunehmen, und dann vor der Härtung und Alkoholbehandlung die Gallerthüllen zu beseitigen.

O. Hertwig wandte zur Vorfixirung der Rana-Eier nahezu kochendes Wasser (90—95° C.) mit 5—10 Minuten Einwirkungsdauer an. Dadurch

wird das Ei koagulirt und in einem, wenn auch geringen Grade gehärtet, während die Hülle und namentlich die innerste Dotterhaut brüchig wird und sich ein wenig von der Oberfläche des Eies abhebt. Mit einer feinen, scharfen Scheere schneidet man sodann unter Wasser die Gallerthülle vom Ei ab, bis die innerste Dotterhaut selbst mit einreisst. Bei einiger Uebung gelingt es meist gleich mit dem ersten Schnitt, dieses Resultat zu erreichen und durch Schütteln das Ei aus dem Riss in der Umhüllung herausschlüpfen zu lassen. Da das Ei noch ziemlich weich ist, wird es in schonender Weise mit einer Glasröhre herausgenommen und in 0,5%ige Chromsäure oder in Alkohol von 70, 80 und 90% gebracht. Da die Eier in der Chromsäure leicht brüchig werden, dürfen sie darin nicht länger als 12 Stunden verweilen. Die Färbung dieser in Chromsäure gehärteten Eier bleibt schlecht. Auch wird nach O. Hertwig die Pigmentirung des Eies theilweise zerstört.

Die Eier von Urodelen (Triton) brachte O. Hertwig dagegen mit ihren Hüllen direkt in ein Gemisch von 2%iger Essigsäure und 0,5%iger Chromsäure. Die Essigsäure lässt die Hüllen etwas quellen und tödtet die Zellen rasch ab, worauf sie durch die 0,5%ige Chromsäure noch mehr erhärtet werden. In 10 Stunden ist die Härtung so weit vorgeschritten, dass die Eier aus der Umhüllung leicht und ohne Schaden zu leiden herausgelöst werden können. Mit einer Scheere schneidet man ein Stück von der Gallerthülle ab, so dass der Raum, in welchem das Ei liegt, geöffnet wird, und lässt das Ei aus der Oeffnung heraustreten, wobei man mit Nadeln nachhilft. Darauf Uebertragung in 70-, 80-, 90%igen Alkohol und Färbung mit alkoholhaltigem Boraxkarmin.

Morgan bringt die einzelnen aus dem Froschlaich herausgeschnittenen Eier auf 1—12 Stunden in eine gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 70%igem Alkohol, dem 2% Schwefelsäure hinzugesetzt sind, sodann in 70- und 80%igen Alkohol. Dadurch schwillt die Hülle so an, dass man sie anstechen und das Ei herausholen kann. Zum Einbetten bringt sie Morgan nur auf 2—5 Stunden in Alkohol absolutus, dann auf 2—5 Stunden in Terpentinöl, von da auf je ½ Stunde in weiches und hartes (56—58° C. Schmelzpunkt) Paraffin und schneidet sie bei 24—25° C.; der Dotter ist dann nicht brüchig.

Den zuletzt genannten Präparationsmethoden ist unzweifelhaft überlegen das von Whitman und Blochmann zuerst benutzte Verfahren, die Amphibieneier nach der Fixirung durch Einwirkung von Natriumhypochlorit oder Eau de Javelle zu behandeln, welche Reagentien die Gallerthüllen auflösen.

Whitman lässt die fixirten (Urodelen-)Eier in einer 10%igen Lösung von Natriumhypochlorit (Eau de Labarraque), die mit dem 5—6fachen Wasserquantum verdünnt ist, so lange, bis man sie durch Schütteln von den Hüllen frei machen kann. Bei Necturus tritt das in einigen Minuten ein. Man muss sich aber hüten, die Eier zu lange in der Flüssigkeit zu lassen, da sie sonst verderben. Nach der Herausnahme werden die Eier wiederholt mit Wasser abgespült.

Auch Eycleshymer benutzte zur Entfernung der Hüllen der fixirten und auch schon mit Alkohol gehärteten Eier eine schwache Lösung von Eau de Labarraque, indem er die Eier aus dem 70%igen Alkohol durch 50%igen Alkohol und Wasser in die Lösung überführte.

Blochmann behandelte Froschlaich nach Fixirung mit Flemming'scher Lösung und nach dem Auswaschen mit verdünntem Eau de Javelle (1 Theil auf 3—4 Theile Wasser). In circa 15—20 Minuten ist die Gallertschicht aufgelöst, die Eier sind zu Boden gesunken. Nun werden diese in Wasser ausgewaschen und allmählich in Alkohol übergeführt, müssen aber sorgfältig behandelt werden, da sie leicht verletzbar sind. Färbung mit Boraxkarmin.

Schliesslich mögen der Vollständigkeit wegen noch die folgenden Methoden aufgeführt werden, welche von verschiedenen Autoren für Amphibieneier und Embryonen empfohlen worden sind.

Lee fixirte die Eier von Batrachiern mit Sublimatsalpetersäure, worin sich nach einigen Tagen die Gallertschicht leicht entfernen lässt; diese Methode bietet den Vortheil, dass die Eier sich sehr gut färben.

Michaelis behandelte die Eier von Tritonen, welche von dem Weibchen einzeln an Wasserpflanzen abgelegt werden, zum Studium der Befruchtungserscheinungen mit einer Sublimatpikrinsäuremischung, welche sich ihm für diesen Zweck vorzüglich bewährte (koncentrirte Sublimatlösung 1000, koncentrirte Pikrinsäure 1000, Eisessig 50, Wasser 2000). Nach dem Fixiren wurden die Gallerthüllen mit Scheere und Pincette abpräparirt, was jedenfalls vor dem Einlegen in Alkohol geschehen muss. Sodann Härtung der Eier in allmählich ansteigendem Alkohol, Einbettung vermittelst Chloroform in Paraffin, Färbung der Schnittserien mit Eisenhämatoxylin.

Grönroos fixirte die Eier von Salamandra besonders zum Studium der Oberflächenbilder mit einem Gemisch von gesättigter Sublimatlösung und $^1/_2$%iger Chromsäure je 50 Theile und Eisessig 1 Theil.

R. Fick legte die Eier vom Axolotl zum Studium der Befruchtungserscheinungen auf 24 Stunden in Chromessigsäure (25 Ccm. 1%iger Chromsäure, 75 Ccm. Wasser, 0,1 Ccm. Eisessig). Erst nach der Fixirung wurden die Eier mittels Scheere und Nadel von ihren Hüllen befreit. Sodann wurden die hüllenlosen Eier 24 Stunden lang in fliessendem Wasser ausgewaschen und kamen auf abermals 24 Stunden in 60%igen Alkohol, alsdann auf 24 Stunden in 80%igen Alkohol und von da auf dieselbe Zeit in eine alkoholische Boraxkarminlösung. Hierauf Differenzirung in 70%igem salzsaurem Alkohol nnd Härtung in 90%igem Alkohol (3 Stunden lang). Die gehärteten Eier wurden in Bergamottöl für die Paraffineinbettung vorbereitet (2—4 Stunden), Einbettung in Paraffin von 50° C. Schmelzpunkt. In Paraffin verbleiben die Eier $^1/_2$—1 Stunde, bei längerem Verweilen werden sie hart und brüchig.

V. Schmidt behandelte die Larven vom Axolotl mit $^1/_4$%iger Lösung von Chromsäure. Die älteren Larven wurden zuerst einige Stunden mit Flemming'scher Lösung und dann mit Chromessigsäure behandelt, einige auch mit Pikrinschwefelsäure. Färbung mit Boraxkarmin oder Hämatoxylin nach Delafield.

Corning härtete die Embryonen von Anuren in Rabl's Pinkrinsäuresublimatlösung und färbte sie dann sofort mit frisch zubereiteter Alauncochenille. Die sofortige Färbung ist sehr wesentlich für die Erhaltung klarer Bilder. Eingebettet wurde nach dem Verfahren von O. Schultze.

Der letztere Autor hatte 1887 zur Fixirung der Eier von Anuren und Urodelen folgendes Verfahren angegeben. Die von den Hüllen möglichst befreiten Eier kommen zur Fixirung auf 24 Stunden entweder in Flemming'sche Chromosmiumessigsäure oder in Flemming'sche Chromessigsäure. Nach reichlicher Wasserspülung eignen sich die Eier vorzüglich zum Oberflächenstudium. In Alkohol von 50% gebracht, verbleiben sie in diesem 24 Stunden und dann je 24 Stunden in Alkohol von 70, 85 und 95%. Letzterer wird mehrmals abgegossen und durch neuen ersetzt. Aus dem starken Alkohol kommen die Eier in Terpentin, welcher die Eier je nach ihrer Grösse in 1—2 Stunden durchtränkt hat. Jetzt muss die Eischale entfernt werden, was O. Schultze vermittelst eines kleinen chirurgischen Löffels ausführte. Darauf werden die Eier sogleich auf $^1/_2$—1 Stunde in Paraffin von 50° C. gebracht. Zur Vermeidung der Brüchigkeit des Dotters kommt nach O. Schultze alles auf die genaue Einhaltung der angegebenen

Zeiten an. Sollen die Eier durchgefärbt werden, so kommen sie aus 50%igem Alkohol auf 24 Stunden in alkoholische Boraxkarminlösung, sodann in salzsauren Alkohol. Bei häufigem Wechseln des letzteren entfärben sich auch die Dotterkörner und nur die chromatische Substanz bleibt intensiv roth.

In neuerer Zeit hat derselbe Autor zur Erhaltung des normalen Reliefs und der normalen Pigmentirung des Froscheies das folgende Verfahren empfehlen. Die Eier werden, nachdem die Gallerthülle bis auf die die Dotterhaut umgebende innerste Gallertschicht mit der Scheere entfernt ist, in erwärmte 2%ige wässerige Formollösung von 75, höchstens 80° C. auf 5 Minuten übertragen. Sie sterben momentan ab und wie bei der älteren Fixirungsmethode in heissem Wasser, hebt sich die auf dem Ei zurückbleibende Hülle so weit vom Ei ab, dass dieses mit Nadeln aus der Kapsel leicht herausgeholt werden kann. Die Eier eignen sich durch ihre lederähnliche und doch nicht harte, elastische Konsistenz ausgezeichnet zur Präparation unter der Lupe. Bis die Eier zur weiteren Untersuchung kommen, bleiben sie in 2%iger Formollösung in der schützenden Hülle. Sie behalten hierin monatelang ihre auch für die Schnittmethode ideale Konsistenz. Zur Einbettung empfiehlt O. Schultze Einlegen der Eier aus der Formollösung in Alkohol von 70 und 95%, dann in Bergamottöl je mindestens 2 Stunden, darauf je 10 Minuten in einmal gewechseltes Paraffin zur definitiven Einbettung. In dieser Weise kann man morgens abgetödtete Eier am Abend desselben Tages geschnitten auf dem Objektträger im Balsam vor sich haben. Die natürliche Färbung des Eies kann die Tinktion überflüssig machen.

Auch Bouin fixirt die jungen Larven von Rana mit Formol 1 Theil, dem 3 Theile gesättigte, wässerige Sublimatlösung zugesetzt sind, während 2—3 Stunden und bringt sie nach raschem Abspülen in Wasser direkt in Alkohol von 70%.

Braus benutzte das Sublimatessigsäuregemisch mit oder ohne Osmiumsäurezusatz (Eisessigsublimat und Osmiumsäure je 1 Theil, Wasser 20 Theile).

Erlanger fixirte Eier und Embryonen von Rana, Bufo und Bombinator mit Flemming'scher Lösung und befreite sie sodann nach der Blochmann-schen Methode von der Gallerte, indem er sie in einem weiten Glascylinder in mit dem 5—6fachen Volumen Wasser verdünntes Eau de Javelle brachte und sie hierin langsam hin und her bewegte. In etwa 1/4 Stunde ist die Gallerte aufgelöst und kann man dann die Eier nach sorgfältigem Auswaschen mit Alkohol weiter behandeln.

Die Untersuchung der Oberflächenverhältnisse der konservirten, dunkeln Amphibieneier und Embryonen nahm Erlanger bei auffallendem Licht in einer mit weissem Wachs ausgegossenen Glasschale vor. In dem Wachs können Löcher und Rinnen angebracht werden, um darin den Embryo in beliebiger Lage festzuhalten. Man kann nach Erlanger die gehärteten Eier oder Embryonen auch trocken untersuchen, da sie ihre Form gar nicht verändern, wenn man sie aus absolutem Alkohol langsam trocknen lässt. Findet sich in den Eiern bereits eine grössere Höhle, so muss man sie, um das Kollabiren zu verhindern, in Paraffin tränken und ihre Oberfläche darauf vom anhaftenden Paraffin durch Terpentinöl oder Chloroform befreien. Man klebt dann das Objekt auf dem Objektträger in der gewünschten Lage fest und kann es so bequem untersuchen.

Litteratur: Adler (Int. Monat. Anat. Phys., Bd. 18, 1901), Blochmann (Zool. Anz., Bd. 12, 1899), Bouin (Arch. Biol., Bd. 17, 1900), Braus (Jena. Zeit. Nat., Bd. 29, 1895), Carnoy et Lebrun (Cellule, Bd. 12, 1897), Corning (Morph. Jahrb., Bd. 27, 1899), v. Erlanger (Zool. Jahrb., Bd. 4, 1891), Eycleshymer (Journ. Morph., Bd. 10, 1895), R. Fick (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), Grönroos (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), O. Hertwig (Jena. Zeit. Nat., Bd. 15, 1882 und Bd. 16, 1883), Jordan (Journ. Morph., Bd. 8, 1893), Lee und Mayer (Technik, 2. Aufl. 1901), Michaelis (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1897), Morgan Development of the Frog's Egg., New York 1897; citirt nach Mayer), Robinson and Assheton

(Quart. Journ. micr. Sc., Bd. 32, 1891), Roux (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), O. Schultze (Zeit. wiss. Zool., Bd. 45, 1887), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1899), V. Schmidt (Die Entstehung des Hinterendes der Chorda von Siredon pisciformis, 1891), Scott and Osborn (Quart. Journ. micr. Sc., Bd. 19, 1879), Fr. Ziegler (Anat. Anz., 7. Jahrg., 1892).

C. *Reptilien.*

Die Eier der Reptilien sind sehr dotterreich und von einer meist derben, oft mit Kalksalzen imprägnirten Schale umgeben. Bei den Schildkröten und Krokodilen kommt dazu noch eine zwischen Schale und Dotterhaut gelegene dicke Eiweisslage, welche den Eiern der Lacertilier und Schlangen fehlt.

Die früheren Entwicklungsstadien bilden sich regelmässig im Eileiter aus, die späteren Stadien im abgelegten Ei; bei den Schlangen und Sauriern sind manche Gattungen ovovivipar.

Bei der Konservirung werden die früheren Stadien auf dem Dotter in situ fixirt, die älteren Embryonen schneidet man am besten heraus und fixirt sie einzeln.

Beobachtung am lebenden Objekt.

Die Embryonen lassen sich auf dem von der Schale zum Theil befreiten Ei in indifferenten Medien (physiologische Kochsalzlösung, Humor aqueus) einige Zeit lebend beobachten.

a) Sauria.

Präparation. Fixirung und Färbung.

Zum Studium der Befruchtungsvorgänge am Ei von Anguis fragilis benutzte Oppel theils Eisessigsublimat, theils behandelte er die Eier mit Flemming'scher Lösung und Sublimat (10 Theile Flemming'sche Lösung auf 90 Theile koncentrirter Sublimatlösung) etwa $^1/_4$ Stunde und übertrug sie dann in Sublimat oder Sublimateisessig. Die Eier wurden in der Fixirungsflüssigkeit sofort geschält. Die aus der Befruchtungszeit lassen sich schon beim Schälen an der Beschaffenheit der Schale erkennen. Während nach Oppel sonst Blindschleicheneier am leichtesten mit Pincette und Scheere geschält werden können, geschieht dies bei Befruchtungsstadien leichter mit zwei Pincetten allein. Die Schale ist nämlich bei letzteren ausserordentlich dünn und lässt sich so leicht wie ein Spinngewebe zerreissen. In der Fixirungsflüssigkeit wurden die Eier 2 Stunden belassen, dann nach den gewöhnlichen Regeln mit Alkohol behandelt. Nach 24 Stunden, nachdem die Eier aus dem 70%igen Alkohol in 80%igen übertragen waren, schnitt Oppel die Keimscheiben mit einem Rasirmesser ab, was zu dieser Zeit leicht geht; später wird der Dotter im Alkohol hart. Mit Nadeln und Scheere lässt sich die Keimscheibe nur schlecht abpräpariren. Stückfärbung mit Boraxkarmin und Nachfärbung der Schnitte mit Böhmer'schem Hämatoxylin.

Nicolas fixirte die Befruchtungsstadien von Anguis theils mit Bouin's Formolpikrinessigsäure (15 Theile gesättigter Pikrinsäure, 5 Theile Formol und 1 Theil Eisessig), theils mit Eisessigsublimat, theils mit alkoholischer Sublimatlösung nach v. Lenhossék (v. Apáthy's Sublimatalkohol [Alk. 50% 100 Ccm., Kochsalz 0,5 Grm., Sublimat 4 Grm.] 75 Theile, Alk. absol. 25 Theile, Eisessig 5 Theile; Einwirkungsdauer 6 Stunden, Härtung in 90%igem Alkohol); die letztere ist jedoch für die Fixirung ganzer Eier nicht gut.

Die Dotterhaut ist bald zu entfernen, da Nicolas beobachtete, dass sich ein Niederschlag zwischen Ei und Haut bildete, der störend wirkt. Färbung der Schnitte mit Eisenhämatoxylin.

Strahl präparirte die Embryonen von Lacerta aus dem frischen Ei und legte sie zur Fixirung in Kleinenberg'sche Flüssigkeit. Die Herausnahme selbst ist nicht immer ganz leicht, da man in einzelnen Fällen zwar die Stelle der Keimscheibe von aussen durchschimmern sieht, in anderen dagegen äusserlich nichts davon zu bemerken ist. Färbung mit Pikrokarmin.

Böhm und Oppel erzielten die besten Resultate, indem sie von den frischen Eiern die Schalenhaut unter physiologischer Kochsalzlösung entfernten. Das letztere wird nach diesen Autoren nicht allzuschwer erreicht, wenn man mit einer spitzen Pincette das Ei so fasst, dass sich eine niedrige Falte bildet. Diese wird nun mit einem möglichst langen Schnitt entfernt. Ist die Oeffnung eine sehr kleine geworden, so kommt es leicht zur Bildung eines Extraovates, welches gewöhnlich mit dem Platzen der Dotterhaut, respektive dem Ausfliessen des Dotters endet, wobei das Ei zugrunde geht. Das von den Eihäuten befreite Ei führten sie sodann mit einem Hornlöffel in die Fixirungsflüssigkeit über, als welche sie $^1/_3$ %ige Chromsäure (24 Stunden), Pikrinschwefelsäure (5 Stunden), koncentrirte Sublimatlösung mit 20% Eisessigzusatz oder ein Gemisch von 2 Theilen koncentrirter wässeriger Sublimatlösung mit 1 Theil 1%iger Chromsäure (1—$1^1/_2$ Stunden) benutzten. Die Keimscheiben werden darauf in Wasser herausgeschnitten und in Alkohol gehärtet. Bei ganz jungen Stadien schnitten sie die Keimscheiben aber erst nach der Härtung des Eies in Alkohol mit einem Rasirmesser ab. Als bequemere Methode schlagen Böhm und Oppel vor, die ganzen Eier ungeschält in Pikrinschwefelsäure auf 5—6 Stunden oder in die Boveri'sche Eisessigpikrinsäurelösung auf 24 Stunden zu legen. Hierauf werden die Eier in destillirtes Wasser übertragen und mit Scheere und Pincette von der Schalenhaut befreit; sodann Härtung in Alkohol.

Ich habe es am zweckmässigsten gefunden, die Eier von Lacerta und Anguis ungeschält direkt in Eisessigsublimat (5% Eisessig) oder Zenker-sche Lösung oder (bei älteren Stadien) in Rabl's Pikrinsäuresublimatlösung auf etwa 12 Stunden zu bringen, alsdann die Eischale zu entfernen, die Fixirungsflüssigkeit noch 1—2 Stunden einwirken zu lassen und dann weiter zu behandeln. Direkte Ueberführung in Alkohol von ansteigender Koncentration unter Vermeidung der Wasserspülung, Färbung mit Boraxkarmin.

Will nahm die Oeffnung der Eier und Präparation der Embryonen von Platydaktylus unter der Konservirungsflüssigkeit selbst vor. Die Embryonen wurden mit dem Dotter gehärtet und eine Ablösung derselben erforderlichenfalls später ausgeführt. Jüngere Keimscheiben wurden mit dem Dotter geschnitten. Von Konservirungsflüssigkeiten wurden besonders Chromsäure und Chromosmiumessigsäure angewandt, von denen die letztere aber nur so viel Osmiumsäure enthielt, als gerade nöthig war, um dem Dotter eine dunklere Färbung zu verleihen, die geeignet ist, die Keimscheibe mit dem Embryonalschild besonders scharf hervortreten zu lassen. Sublimat macht nach Will Dotter und Keimscheibe bei dem Gecko so gleichmässig weiss, dass man die Keimscheibe überhaupt nicht mehr erkennt und bei der Präparation in steter Gefahr schwebt, den Embryo zu verletzen. Gefärbt wurde mit Boraxkarmin und Hämatoxylin.

von Davidoff fixirte Ascalabotes- und Lacertaembryonen, nachdem die Eier unter physiologischer Kochsalzlösung eröffnet waren, mit Eisessigsublimat oder Rabl'scher Sublimatpikrinsäure. Von einer Abwaschung in Wasser wurde Abstand genommen, die Objekte kamen vielmehr in schwachen Alkohol, der sehr behutsam verstärkt wurde. Die Färbung mit Boraxkarmin gelingt an den Sublimateisessigpräparaten am besten. Nachfärbung der Schnitte mit Bleu de Lyon.

Litteratur: Böhm und Oppel (Taschenbuch, 4. Aufl., 1900), von Davidoff (Fest. f. Gegenbaur, 1896), Nicolas (Arch. d'Anat. micr. 1900), Oppel (Arch. mikr. Anat., Bd. 39), Strahl (Arch. Anat., Jahrg. 1881), L. Will (Zool. Jahrb., Bd. VI).

b) Ophidia.

Präparation, Fixirung und Färbung.

Die im Befruchtungsstadium befindlichen Eier der Ringelnatter schälte Oppel, nachdem sie etwa 3 Stunden in Sublimatchromsäure gelegen hatten. In Alkohol wurden die Keimscheiben nach 24 Stunden mit dem Rasirmesser abgetragen, mit Boraxkarmin im Stück gefärbt und im Schnitt mit Böhmer's Hämatoxylin nachgefärbt.

Ich verfuhr bei der Konservirung der Schlangeneier (Ringelnatter, Schlingnatter, Kreuzotter) folgendermassen: Aus der mit Chloroform* getödteten Schlange werden die eierhaltigen langen Uteri herausgeschnitten und auf etwa 1—2 Stunden in die Fixirungsflüssigkeit gebracht, nachdem man sie zwischen den Eiern in einzelne Abschnitte zerlegt hat. Alsdann lässt sich die erhärtete Uteruswandung mit 2 Pincetten von den Eiern durch Einreissen leicht ablösen. Versucht man die Entfernung der Uteruswandung am frischen Objekt, so kommen besonders die dünnwandigen Eier der Schlingnatter und Kreuzotter in Gefahr. Als Fixirungsflüssigkeiten bewährten sich Eisessigsublimat, Zenker'sche Flüssigkeit und (für die älteren Stadien) auch die Rabl'sche Sublimatpikrinsäure. Ausserdem empfiehlt sich auch die Anwendung von $^1/_2$%iger Chromsäure und 4%iger Formollösung; auch ein Gemisch von $^1/_2$%iger Chromsäure (1 Theil) und 3%iger Salpetersäure (3 Theile) that gute Dienste. Die Eier werden in toto 12—24 Stunden in einer der genannten Flüssigkeiten fixirt. Alsdann wird die Schälung der derbschaligen Ringelnattereier vorgenommen. Man fasst in der Fixirungsflüssigkeit das Ei mit einer feinen Pincette an dem einen Eipol, hält es etwas gegen das Licht, wobei man die Keimscheibe, resp. die Embryonalanlage als dunklere Stelle erkennt, und schneidet sodann an der keimfreien Seite des Eipoles auf einer weichen Unterlage mit einer feinen Scheere eine Oeffnung in die Schale, die man mit Scheere oder Pincette auf der keimfreien Seite bis zum anderen Keimpole erweitert. Dann lässt sich das Ei leicht aus der Schale herausheben. Bei den mit einer sehr zarten, durchsichtigen Schalenhaut versehenen Kreuzottereiern macht die Entfernung der Schale mit zwei Pincetten wenig Mühe. Es empfiehlt sich, das geschälte Ei noch 1—2 Stunden in der Fixirungsflüssigkeit zu belassen. Alsdann Ueberführung der Eier direkt in 40—50%igen Alkohol und vorsichtige Härtung in allmählich ansteigendem Alkohol. Später werden die jungen Keimscheiben aus dem Eidotter herausgeschnitten, mit Nadeln von dem überflüssigen Dotter vorsichtig befreit und mit einer dünnen Dotterunterlage geschnitten. Färbung der Schnitte mit Boraxkarmin oder dünnen Hämatoxylinlösungen nach Delafield.

Bei älteren Embryonen ist es geboten, die Embryonen aus dem frischen Ei herauszupräpariren und isolirt zu fixiren.

Gerhardt benutzte zur Fixirung von Keimscheiben der Ringelnatter ein Chromsäuresublimatformolgemisch, welches sich auch bei der Konservirung von Hühnerembryonen bewährt hatte, von folgender Zusammensetzung: Chromsäure, 1%ig, 150 Ccm., Sublimat, gesättigte Lösung, 150 Ccm. Aqua destillata 135 Ccm., Eisessig 15 Ccm., Formol 50 Ccm.

---

* Die Abtödtung mit Chloroform ist der Decapitation durchaus vorzuziehen, um die sonst ausserordentlich störenden Reflexbewegungen des Thieres auszuschalten. Das gilt auch für andere Thiere.

Fixationsdauer 24 Stunden. Darauf wurden die Eier in fliessendem Wasser ausgewaschen, um dann in 70-, resp. 85%igen Alkohol gebracht zu werden. Sodann Abtrennung der Keimhäute nebst anhaftendem Dotter mit dem Rasirmesser. Schnittfärbung mit Boraxkarmin und Nachfärbung mit Pikrinsäure oder Orange. Anfangs benutzte GERHARDT das Gemisch von CARNOY (Eisessig 1 Theil, Alkohol absolutus 6 Theile, Chloroform 3 Theile), fand aber, dass die Schlangeneier darin sehr stark schrumpfen.

Litteratur: E. BALLOWITZ (Zeit. wiss. Zool., Bd. 70, 1901), GERHARDT (Anat. Anz., Bd. 26, 1901), OPPEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 39).

c) Chelonia.

Präparation, Fixirung und Färbung.

Da bei den Schildkröteneiern das sehr zähe Eiweiss und eine früh eintretende Verklebung des Embryos mit der Eihaut Schwierigkeiten machen, muss auf die Präparationsmethode näher eingegangen werden.

MEHNERT verfuhr bei der Präparation der Embryonen von Emys lutaria folgendermassen. Bei dem Ovidukte entnommenen Eiern und ein paar Tage nach der Eiablage eröffnet man die Kalkschale und giesst den gesammten Inhalt ohne weiteres in eine $1/2$%ige Chromsäurelösung. In reinem Wasser und in $1/2$%iger Kochsalzlösung erscheint das Eiweiss nahezu durchsichtig. Chromsäurelösungen lassen hingegen schon nach wenigen Minuten die Eiweissumhüllungen schärfer hervortreten; die letzteren werden nun successive mit Pincetten vom Dotter entfernt, was mit grösster Vorsicht geschehen muss, da die Eidotterhülle äusserst zart ist und selbst die geringste Verletzung derselben das Zerfliessen des Dotters und das Verlorengehen des ganzen Keimes zur Folge hat.

Die Eidotterkugel wurde von MEHNERT stets in toto fixirt. Erst nach 1—2 Tagen wurde sodann der Keim unter $1/2$%iger Chromsäure in weitem Umkreise umschnitten. Der in der Dotterkugel herrschende Innendruck hebt die Keimscheibe jetzt ohne Beihilfe ab und lässt sie in der Fixirungsflüssigkeit flottiren. Aus ihr wird der Keim mit einem Löffel herausgefischt. Versäumt man, sich des umschnittenen Blastoderms schnell zu bemächtigen, so ist der Keim meist verloren, da die reichlichen, sehr flüssigen Eidottermassen das Wasser in kürzester Zeit undurchsichtig machen.

Die umschnittenen Keimscheiben kommen ohne Auswässerung aus der Fixirungsflüssigkeit direkt in 30%igen Alkohol, dann successive auf je 24 Stunden in 50-, 80- und 96%igen Alkohol.

Zur Fixirung benutzte MEHNERT ausser der $1/2$%igen Chromsäure noch gesättigte Pikrinsäurelösung, und zwar besonders bei älteren Embryonen, bei denen Ossifikationen zu vermuthen waren.

Sehr schwierig ist nach MEHNERT die Auffindung des Keimes in den allerersten Entwicklungsphasen vor dem Auftreten des Embryonalschildes. Eine dem Eileiter von Emys entnommene befruchtete Eidotterkugel gewährt anfänglich weder bei der Betrachtung mit blossem Auge noch bei der Zuhilfenahme einer Lupe einen Anhaltspunkt, an welcher Stelle der Keim in Bildung begriffen ist. Selbst nach der Härtung in Chromsäure oder Pikrinsäure markirt sich der Keimfleck in keiner Weise. Dagegen tritt er bei Anwendung von schwachen Osmiumsäurelösungen als ein etwas dunkler tingirter Fleck hervor. Die Osmiumsäurefixation führte MEHNERT in der Weise aus, dass er vermittelst einer Pipette tropfenweise eine $1/4$%ige Osmiumlösung auf die von den Eiweisshüllen befreite, in physiologischer Kochsalzlösung suspendirte Dotterkugel so lange träufelte, bis der Keim sich durch stärkere Dunkelfärbung von der Umgebung abhob. Sodann wurde die Keimscheibe in weitestem Umfange umschnitten und in Alkohol gebracht.

Sehr störend für die Konservirung ist nach Mehnert eine eigenthümliche Verklebung der vorderen Amniosfalte mit der Innenmembran der Kalkschale, welche schon sehr früh gleich nach Ausbildung der vorderen Amniosfalte eintritt. Ein jeder Versuch, in einem solchen Stadium den Eidotter herauszugiessen, führt zum unfehlbaren Einreissen der fixirten Amniosfalte und ausnahmsloser Vernichtung des ganzen Embryos. Anfänglich entfernte Mehnert die Kalkschale, ohne die innerste Membran derselben zu verletzen, und erhärtete sodann den Embryo mitsammt der ihm anliegenden Schalenhaut. Diese Methode ist sehr umständlich, erfordert viel Zeit und grosse Vorsicht bei der Ausführung.

In den meisten Fällen bediente sich Mehnert eines anderen Verfahrens. Zunächst ermittelte er bereits an der Kalkschale den Sitz des Embryos und kehrte denselben nach unten. An der jetzt nach oben gewandten, dem Keime entgegengesetzten Stelle legte er in die Kalkschale vermittelst einer spitzen Scheere eine möglichst grosse Oeffnung an und suspendirte dann die untere Hälfte der Kalkschale mitsammt dem Eidotter und Eiweiss in einer $^1/_2$ $^0/_0$igen Chromsäurelösung. Nach 24 Stunden wurde die Oeffnung in der Kalkschale mit einer Scheere vergrössert. Um eine Verletzung der Dotterkugel zu verhindern, müssen die Ränder der Oeffnung möglichst glatt sein. Durch die 24 Stunden währende Einwirkung der Chromsäure hatte sich die Verklebung der Amniosfalte gelöst und die ganze Dotterkugel konnte jetzt leicht ohne jede Schädigung herausgezogen werden.

Erst wenn der Gefässhof die Hälfte der ganzen Dotteroberfläche überzogen hat, ist es nach Mehnert gestattet, bei dem Aufschneiden der Kalkschale auch die Eidotterkugel anzustechen und den Inhalt unter Chromsäure zum Theile herausfliessen zu lassen. Dabei müssen der Gefässhof und der Embryo der Kalkschale angelagert in situ verbleiben.

Die Embryonen von dem Auftreten der vorderen Amniosfalte bis zur Bildung eines Nabelstranges fixirte Mehnert mitsammt der anliegenden Kalkschale 24 Stunden in Chromsäure, löste sie dann von der Kalkschale und härtete noch weitere 24 Stunden in Chromsäure nach.

Bei grösseren Embryonen nach der Ausbildung einer prallen Amniosblase und eines Nabelstranges kann die Amniosblase sogleich geöffnet und der Nabelstrang durchschnitten werden.

Voeltzkow entfernte zur Erlangung der jüngsten Stadien an den dem Eileiter von frischgefangenen Podocnemis madagascariensis entnommenen Eiern die Eischale zur Hälfte, präparirte unter $^1/_2$ $^0/_0$iger Chromsäure das schnell darin gerinnende Eiweiss mit Nadel und Pincette vom Dotter ab, was einige Vorsicht erfordert, und härtet dann in toto in $^1/_2$ $^0/_0$iger Chromsäure. Nach einigen Stunden wurde der Keim unter Chromsäure abgeschnitten und mit einem Uhrschälchen abgenommen. Dies muss möglichst rasch geschehen, da sonst der hervorfliessende Dotter die Flüssigkeit trübt und der Keim verloren geht. Der letztere wurde sodann für sich in 0,25 $^0/_0$iger Chromsäure weiter fixirt, in Alkohol von steigender Koncentration gehärtet und schliesslich in 80 $^0/_0$igem Alkohol aufbewahrt.

Mitsukuri behandelte die Embryonen von Schildkröten (Trionyx, Clemmys, Chelonia) hauptsächlich mit Pikrinschwefelsäure.

Die jungen, gewöhnlich an der Schale anhaftenden Embryonen fixirte er, ähnlich wie Mehnert, mit dem betreffenden Schalenstücke wie in einem Uhrglase, löste sie nach $^1/_2$ Stunde ab und härtete sie für sich weiter. Waren aber schon die Embryonalhüllen vorhanden, so schabte er die Schale an einer Stelle ab und behandelte sie mit Pikrinschwefelsäure, bis ein kleines Loch entstand; von hier aus fuhr er mit dem Schaben und Auftröpfeln der Säure fort, bis sich ohne Verletzung der Hüllen die ganze Schale entfernen liess.

Litteratur: Mehnert (Morph. Arb., Bd. I, 1892), Mitsukuri (Journ. Coll. Sc. Imp. Univ. Japan. Vol. VI, 1893), Voeltzkow (Abh. Senckenberg. Nat. Ges., Bd. 26, 1901).

d) Crocodilina.

Präparation, Fixirung und Färbung.

Nach Clarke und Voeltzkow ist das Crocodilierei das zarteste und am schwierigsten zu behandelnde Objekt und gelingt es nur selten, den Embryo ganz unverletzt zu präpariren.

Nach Voeltzkow bieten die frisch gelegten Eier keinen Anhalt zur Bestimmung der Lage des Embryo in ihm. Erst einige Tage später wird am Ei eine weisse Stelle sichtbar, welche sich immer mehr ausdehnt und schliesslich das Ei im Bereiche des schmäleren Durchmessers ringförmig umfasst, wodurch die Lage der Frucht angedeutet wird.

An den dem Eileiter entnommenen Eiern, welche die ersten Stadien enthalten und welche einige Minuten ruhig liegen müssen, damit der Keim sich auf der oberen Seite des Eies anordnet, präparirte Voeltzkow die Eischale auf der oberen Seite des Eies ungefähr in der Ausdehnung des Dotters ab, was sich ganz gut bewerkstelligen lässt, wenn man mit einem spitzen Instrument seitwärts eine kleine Oeffnung macht und von dort ausgehend mit einer Pincette die Schale abbröckelt. Alsdann wird vermittelst einer Nadel soweit wie möglich das sehr zähe Eiweiss abpräparirt, was gar nicht schwer ist, wenn man sich einer gebogenen Nadel bedient und schichtenweise vorgeht. Das über die Schalenränder quellende Eiweiss muss man sofort mit der Scheere abschneiden, da es sonst auf einer Seite ganz herausfliesst, das Eigelb zum Rotiren und den Keim zum Verschwinden bringt. Bei einiger Geschicklichkeit gelingt es, das Eiweiss bis auf die Dottermembran abzupräpariren. Verletzt man dabei den Dotter nur im geringsten, so fliesst alles auseinander.

Das so zubereitete Ei härtete Voeltzkow nun in toto in $^1/_2$—$^3/_4$%iger Chromsäure $^1/_2$—1 Tag lang, wobei von Zeit zu Zeit die Reste des Eiweisses, die schnell gerinnen, mit einer Pincette schichtenweise abgezogen wurden. Hierauf trennte Voeltzkow durch einen raschen Schnitt unter Chromsäure den Keim ab, fing ihn mit einem Uhrschälchen auf und härtete ihn noch einen Tag in $^1/_4$—$^1/_2$%iger Chromsäure nach. Nach Wässerung Härtung in Alkohol von steigender Koncentration und Aufbewahrung in 80%igem Alkohol.

Ueber die von Voeltzkow angewandte Färbung der Chromsäurepräparate siehe oben unter Chromsäure.

Litteratur: Voeltzkow (Abh. Senckenberg. Nat. Ges., Frankfurt a. M., Bd. 26, 1899).

D. Vögel.

1. Beobachtung des lebenden Objektes.

Wenn es nur darauf ankommt, den Embryo kurze Zeit lebend zu beobachten, empfehlen Foster und Balfour, das noch warme bebrütete Ei in auf 38° C. erwärmter physiologischer Kochsalzlösung zu eröffnen, indem man den stumpfen Pol anschlägt, um die Luft aus der Luftkammer zu entlassen, und darauf von hier aus die Schale und Schalhaut mit Pincetten vorsichtig zu entfernen. Will man den Embryo isolirt untersuchen, so wird der Keim nach aussen vom Gefässhof schnell umschnitten, in einem Uhrschälchen mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen, durch sanftes Schütteln von dem anhaftenden Dotter befreit und auf einem Objektträger untersucht.

Duval legte an dem unter Kochsalzlösung eröffneten Ei auf den aus der Flüssigkeit herausgehobenen Dotter einen Ring von gummirtem Papier

derart, dass der Ring wie ein Rahmen die Keimhaut umgiebt. Nachdem noch einige Minuten das Papier an der Dotterhaut angeklebt ist, wird das Blastoderm nach aussen vom Papier durchschnitten, so dass der Keim in dem Ringe wie in einem Rahmen hängt und mit demselben unter das Mikroskop gebracht werden kann.

Um den Hühnerembryo längere Zeit und wiederholt während seiner Bebrütung beobachten zu können, hat L. GERLACH das folgende Verfahren erprobt. Man setzt das Ei mit nach unten gewandtem stumpfen Pole in einen Eierbecher und durchbohrt an seinem spitzen Pole die Schale mit einer gebogenen Scheere in einer annähernd kreisförmigen Linie, so dass eine kleine, runde Oeffnung in der Schale entsteht, welche mit einem Glasschälchen, am besten Damenuhrgläschen, von 2,5—3 Cm. Durchmesser bedeckt wird. Dabei ist darauf zu achten, dass die Oeffnung in der Schale nicht zu gross wird; das Schälchen muss mit seiner Peripherie die Oeffnung überragen. Nach der Entfernung des spitzen Pols wird aus der Eischale eine kleine Quantität Eiweiss abgesogen, wobei sich der Dotter mit seiner Keimscheibe nach oben dreht. Hierauf wird das Eiweiss in das Ei zurückgegossen und das letztere bis zum Rande der Fensteröffnung wieder damit angefüllt. Nun kann das Uhrschälchen auf die Fensteröffnung gekittet werden, was dadurch erzielt wird, dass man den Schalenrand der Oeffnung mit koncentrirter Gummi arabicum-Lösung bestreicht, ringsumher mit einem Wattestreif belegt, das am Rande gleichfalls mit Gummilösung bestrichene Uhrschälchen auf die Oeffnung setzt und, indem man es fest aufdrückt, durch einen aufgepinselten Kollodiumring in seiner Lage fixirt. Bei dem Auflegen des Schälchens ist das Eindringen von Luftbläschen zu vermeiden. GERLACH verkittete den Fensterrand dann noch zum Schluss mit Bernsteinlack.

Die mit Polfenster versehenen Eier vertragen im Brütofen nicht die vertikale Stellung, sterben vielmehr bald ab; sie müssen im Brütofen daher horizontal liegen. Bei dieser Stellung verläuft fast ausnahmslos die Embryonalentwicklung in ganz normaler Weise. Will man den Embryo eines solchen Eies betrachten, so braucht man nur nach Herausnahme desselben aus dem Brütofen das Fenster nach oben zu kehren, worauf sich der Dotter so stellt, dass der Keimhof unter dem Uhrschälchen liegt. Schon bei einem 2tägigen Embryo kann man das Ei über eine Viertelstunde aus dem Brutofen herausnehmen, ohne dass in dem Rhythmus der Herzpulsation eine merkliche Veränderung eintritt. Vom 5. Tage an dagegen erhält der Embryo eine fixirte Lage, so dass es nicht mehr gelingt, ihn unter das Fenster einzustellen. Will man dies durch kräftiges und rasches Umdrehen erzwingen, so erfolgt meistens ein Einreissen der um diese Zeit schon sehr umfangreichen Keimhaut, worauf der Dotter austritt und der Embryo bald abstirbt.

L. GERLACH hat auch einen Apparat mit einem abschraubbaren Fenster, sein sogenanntes »Embryoskop«, angegeben; siehe das Nähere hierüber im Artikel »Experimentell-embryologische Methoden«.

2. Präparation.

Um den Embryo freizulegen, müssen Schale und Eiweiss entfernt werden. Man öffnet das Ei, indem man an seinem breiten, die Luftkammer führenden Pole die Schale einschlägt und dieselbe von hier aus vorsichtig in kleinen Stücken mit einer Pincette abbricht und wegnimmt. Noch vor der völligen Eröffnung legt man das Ei in eine Schale mit 0,75%iger, am besten auf Bruttemperatur erwärmter Kochsalzlösung, welche letztere das Ei völlig bedecken muss, und entleert aus der weit eröffneten Eischale den ganzen Eiinhalt vorsichtig in die Kochsalzlösung. Sodann entfernt man das Eiweiss möglichst von dem Dotter, was am wirksamsten dadurch geschieht,

dass man die Chalazen dicht am Dotter mit einer gebogenen Scheere abträgt. Sodann fischt man die intakte Dotterkugel mit einem grossen Hornlöffel, in dessen Höhlung der Dotter schwimmt, aus der Kochsalzlösung heraus und bringt sie in eine zweite Schale mit Fixirungsflüssigkeit, welch letztere das Ei vollständig bedecken muss. Das sofort gerinnende Eiweiss, welches auch nach sorgfältiger Reinigung den Dotter immer noch in dünner Schicht bedeckt, wird von der Region der Keimscheibe mit einem weichen Pinsel behutsam und wiederholt abgepinselt, solange, bis die glatte, glänzende Dotterhaut in der Region des Embryos vollkommen blossliegt. Nachdem der letztere genügend fixirt ist, wird der Keimhof ringsherum umschnitten, das Blastoderm vom Dotter losgelöst, was vom 2. Bebrütungstage an leicht auszuführen ist, in einem Uhrschälchen oder Löffelchen noch einmal auf kurze Zeit in Fixirungsflüssigkeit gebracht und sodann in Alkohol gehärtet. Vor der Härtung empfiehlt es sich, die Dotterhaut mit einer Pincette unter Schütteln von dem Blastoderm zu entfernen. Während des ersten Bebrütungstages lässt sich das Blastoderm nur schwer vom Dotter isoliren. Man fixirt daher die Keimscheibe am besten mit dem ganzen Dotter oder einem Theil desselben.

Es ist darauf zu achten, dass der Aufenthalt der Dotterkugel in der Kochsalzlösung möglichst kurz ist. Will man ihn ganz vermeiden, so kann man die Dotterkugel nach möglichster Befreiung von dem Eiweiss auch direkt in die Fixirungsflüssigkeit bringen. Die Koagulation der Eiweisslagen fällt dann aber reichlicher aus und ist mit dem Pinsel von der Keimscheibe schwieriger zu entfernen.

Um das Ueberführen des Dotters aus der Kochsalzlösung in die Fixirungsflüssigkeit zu umgehen, empfiehlt Mayer, das noch in der eröffneten Schale befindliche Ei aus der Kochsalzlösung ein wenig herauszuheben, so dass das Blastoderm nicht mehr davon bespült wird und auf das letztere mit einer Pipette ein Fixirungsmittel zu tropfen. Indem man das obere Ende der Pipette geschlossen, das untere aber in Kontakt mit der Flüssigkeit auf dem Blastoderm hält, kann man dieses ganz leicht einige Minuten unter der Flüssigkeit halten, so dass es dann hart genug wird, um herausgeschnitten zu werden. Nun taucht man das Ei wieder in der Salzlösung unter, schneidet rund um den Keimhof herum und löst das Blastoderm los, um es in ein Härtegemisch zu bringen.

Um nachträglich entstehende Verbiegungen und Faltungen der Keimscheibe zu verhindern, verfährt man am besten in der Weise, dass man in eine Schale mit flachem Boden die Fixirungsflüssigkeit mit einer Spritze oder Pipette so weit absaugt, bis die Keimscheibe glatt auf dem Boden des Schälchens liegt, und dann Alkohol tropfenweise hinzusetzt.

3. Fixirung und Färbung.

Für die Fixirung der Keime von Vögeln haben sich besonders bewährt Essigsublimat und Sublimatlösungen, das von Rabl empfohlene Pikrinsäuresublimat und Sublimatplatinchlorid, $1^1/_2$—1% Osmiumsäure, Flemming'sche und Hermann'sche Lösung, 3—5% und 10% Salpetersäure, 4%ige Formollösung, schliesslich Chromsäurelösungen und Pikrinschwefelsäure. Nach E. Hoffmann hat die 10%ige Salpetersäure vor allen anderen Fixirungsmitteln den Vorzug, dass sie die Ablösung der Keimscheibe vom Dotter und von der Dotterhaut sehr erleichtert.

Mitrophanow redet der 3%igen Salpetersäure sehr das Wort und empfiehlt sie überhaupt für das Studium der ersten Entwicklungsvorgänge an dotterreichen Eiern. Die Salpetersäurelösung bewahrt einerseits gut die Zellenstruktur, andererseits erhält sie den Dotter plastisch und verleiht ihm bei der weiteren Bearbeitung eine mit den Zellenelementen des Keimes

ungefähr gleiche Festigkeit. Nur für die Furchungsstadien und die ersten Stadien der Blastodermbildung ist noch die Nachbehandlung mit Sublimatpikrinsäure, Flemming'scher Lösung u. a., erforderlich.

Bei der Fixirung jüngerer Stadien, welche mit einem Theil des Dotters gehärtet werden müssen, sind die Reagentien, welche den Dotter schnell hart und brüchig machen, wie die starke Chromsäurelösung, Osmiumsäure, Alk. abs., weniger brauchbar, besonders auch deswegen, weil sie auf das Blastoderm anders als auf den Dotter einwirken.

Oppel erhielt instruktive Bilder mit reinen Silbergrenzen, indem er zu der 3—5%igen Salpetersäure 6—10 Tropfen Silbernitrat auf 100 Ccm. hinzusetzte.

Um von der Keimscheibe Schnitte in einer bestimmten Richtung anfertigen zu können, ist es oft geboten, während der Fixirung eine bestimmte Region der Embryonalanlage zu bezeichnen, was am einfachsten durch einen Einschnitt geschieht. Schwieriger ist die Orientirung der Keimanlage vor dem Auftreten des Primitivstreifens.

Duval ging dabei von der Beobachtung aus, dass bei den Hühnereiern in der weit überwiegenden Anzahl der Fälle (ca. 90%) der Embryo eine bestimmte Stellung mit Bezug auf die Eiaxe besitzt, und zwar derart, dass er quer zum längsten Durchmesser des Eies liegt und dabei dem stumpfen Eipol seine linke, dem spitzen Eipol des Hühnereies seine rechte Seite zukehrt. Um an der zu fixirenden Keimscheibe nun diese Lage dauernd zu markiren, faltet Duval einen Papierstreifen von 5 Mm. Breite und 50 Mm. Länge zu einem kleinen Kästchen von der Form eines spitzwinkelig-gleichschenkeligen Dreiecks ohne Boden, und setzt dasselbe, nachdem es die dem Dotter aufliegende Eiweissschicht mit einer Pipette weggesogen hat, auf den Dotter so auf, dass der Boden des Kästchens durch die Oberfläche des Dotters mit der Keimscheibe gebildet wird. Dabei wird der Papierrahmen so gestellt, dass die Basis seines Dreiecks dem zukünftigen vorderen Ende, seine Spitze dem späteren hinteren Ende des Embryos entspricht. Sodann füllt er das Papierkästchen vermittelst einer Pipette mit Osmiumsäure (1:300) und lässt diese einige Minuten einwirken, bis der dem Boden des Papierkästchens entsprechende Dotterabschnitt sich geschwärzt hat. Darauf kommt das ganze Ei in verdünnte 3%ige Chromsäure; nun wird schnell der Dotter von dem Eiweiss und der Schale befreit und vermittels eines Uhrschälchens in ein anderes Gefäss mit Chromsäure übergeführt, in welcher er noch einige Tage bis zur vollständigen Härtung verbleibt. Nach der Härtung schneidet man das auf dem Dotter deutlich hervortretende schwarze Dreieck heraus, welches die Lage der Keimscheibe genau angiebt und nach Einbettung in Kollodium oder Paraffin in der bestimmten, gewünschten Richtung geschnitten wird.

Kionka markirte an noch ungelegten, aus dem Uterus von Hühnern herausgeschnittenen Eiern die Lage des Keimes dadurch, dass er in der Verbindungslinie zwischen den beiden Chalazen zwischen diesen und dem Keimhof zu beiden Seiten des letzteren, etwa 1 Cm. davon entfernt, je einen Igelstachel in die Dotterkugel einsteckte, von denen der auf der Seite des stumpfen Pols gelegene durch einen rothen Seidenfaden bezeichnet war. Die so bezeichneten Eier wurden mit Hilfe eines Löffels auf Watte in ein grosses Gefäss mit kochendem Wasser gelegt, nachdem die Flamme, welche das Wasser zum Kochen erwärmt hatte, ausgelöscht war. In diesem Wasser, welches eine Temperatur von ungefähr 90° C. hatte und nur ganz allmählich abkühlte, verblieben die Eier 10 Minuten lang. Hierauf wurden die jetzt völlig erstarrten Dotter ebenfalls noch auf Watte in 70%igen Alkohol gelegt, in welchem sie 24—36 Stunden verblieben. Mit einem scharfen Messer wurde nun unter Alkohol die Keimscheibe nebst umge-

bendem Dotter nach DUVAL's Vorgange in Form eines gleichschenkeligen Dreiecks herausgeschnitten, wobei die beiden Igelstachel als Marken dienten. Die herausgeschnittenen Dotterstücke mit der Keimscheibe wurden schliesslich in steigendem Alkohol weiter gehärtet, durch dickes Cedernholzöl in Paraffin eingeschmolzen und in bestimmter Schnittrichtung geschnitten.

MITROPHANOW beträufelte an dem vorsichtig geöffneten Ei die Keimscheibe in situ mit der Fixirungsflüssigkeit (3%iger Salpetersäure) etwa 1/2 Stunde lang, wobei er das koagulirende Eiweiss mit einem Pinselchen entfernte, und schnitt dann den Keim an dem Dotter so heraus, dass er im Centrum eines Fünfeckes lag, dessen zwei hintere Ecken rechtwinkelig und dessen obere — Kopfecke — spitz war.

Zur Durchfärbung des ganzen Keimes wurden unter anderem benutzt: Boraxkarmin mit Nachfärbung durch Pikrinsäure oder Orange, KLEINENBERG's Hämatoxylin, MAYER's Hämalaun. Zur Färbung der aufgeklebten Schnittserien: Karmine, Pikrokarmine, Hämatoxylin zum Theil mit Eosinnachfärbung, Eisenhämatoxylin.

Litteratur: BÖHM und OPPEL (Taschenbuch, 4. Aufl., 1900), M. DUVAL (Ann. Sc. nat. Zool., 6. Sér, Bd. 18, 1884), FOSTER und BALFOUR (The Elements of Embryology, London 1874), GERLACH (Sitz. physik.-med. Soc. Erlangen, 17. Heft, 1885), derselbe (Anat. Anz., 2. Jahrg., 1887), HOFFMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), KIONKA (Anat. Hefte, Bd. 3, 1894), LEE und MAYER (Technik, 2. Aufl., 1901), MITROPHANOW (Anat. Hefte, Bd. 12, 1899).

E. Säugethiere.

1. Beobachtung am lebenden Objekt. Präparation der Eier und Embryonen.

Befinden sich die Eier noch frei in den Tuben und im Uterus, so schneidet man nach MAYER diese letzteren aus dem frisch getödteten Thiere heraus, wartet bis sie erkaltet sind und keine Kontraktionen mehr zeigen, präparirt den Peritonealüberzug ab, schneidet die Organe der Länge nach auf und breitet sie auf einer Unterlage mit der Innenseite nach oben aus. Alsdann untersucht man mit einer Lupe. Die gefundenen Eier werden je mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung, Humor aqueus oder dergl. benetzt und mit einer Messerspitze oder besser einer Pipette von der Mucosa abgehoben. Will man das Ei lebend untersuchen, so wird die Untersuchung in der Peritonäalflüssigkeit der Mutter oder in Humor aqueus oder Amnioswasser vorgenommen. Anderenfalls kommen die Eier sogleich in die Fixirungsflüssigkeit.

Findet man die Eier nicht sogleich, so schabt man das Epithel der Mucosa mit einem Messer ab, mischt die abgeschabte Masse mit etwas physiologischer Kochsalzlösung oder Humor aqueus und untersucht unter dem Mikroskope ohne Deckglas bei auffallendem Licht.

Ein anderes Verfahren, welches sich mir bei kleinen Säugethieren besonders für die Aufsuchung der Furchungsstadien sehr bewährt hat, besteht darin, die herausgeschnittene Tube in kleine Segmente zu zerlegen und die einzelnen Stücke auf einem grösseren Objektträger in etwas indifferenter Flüssigkeit vorsichtig von ihrer Mitte ab nach den beiden Enden hin auszudrücken. Die ausgedrückte Masse wird in der Flüssigkeit etwas zertheilt und unter dem Mikroskope auf die Anwesenheit von Eiern untersucht.

Auch durch Injektion der Tuben mit einer fixirenden Flüssigkeit kann man zum Ziele kommen, wenn man die ausfliessende Flüssigkeit in Uhrgläsern auffängt und sie unter dem Mikroskope durchsucht. v. KÖLLIKER benutzte zur Injektion schwache Osmiumsäure, man kann aber auch alle anderen Fixirungsflüssigkeiten in nicht zu starker Lösung hierzu verwenden, z. B. Chromsäure, Chromessigsäure, Sublimatlösungen u. s. w.

Eine Modifikation dieses Injektionsverfahrens besteht darin, die Ostia abdominalia der Tuben vor der Injektion zu unterbinden und sodann vom vaginalen Ende des Uterus aus den ganzen Genitalschlauch prall mit einer Fixirungsflüssigkeit zu füllen. Nach der Injektion unterbindet man auch die vaginale Injektionsstelle. Die Fixirungsflüssigkeit lässt man einige Zeit einwirken, indem man zugleich das ganze Organ in die Fixirungsflüssigkeit hineinlegt. Nach einiger Zeit schneidet man den Genitalschlauch auf und untersucht den Inhalt.

Bei dem Schwein und den Wiederkäuern lassen sich diese Methoden nicht anwenden, da die Keimblasen hier sehr früh zu langen, bandartigen, gefalteten Schläuchen auswachsen, die sehr zart und leicht verletzbar sind. KEIBEL verfuhr daher zur Gewinnung der Eier und Keimscheiben des Schweins folgendermassen. Aus dem frisch geschlachteten Schwein schnitt er den Uterus in der Weise heraus, dass er zunächst die Scheide durchschnitt, dann den Genitaltraktus fasste und die beiden Uterusschläuche mit möglichster Schonung von der Vagina zur Tube hin von ihrem Mesometrium abtrennte. Tube und Eierstock wurden in gleicher Weise abgetrennt und entfernt. Nach sorgfältiger Entfernung etwaiger den Uteri noch anhaftender Reste des Mesometriums, um ein gleichmässiges Aufstecken derselben zu ermöglichen, wurden die Uterusschläuche in grossen. flachen Wannen mit Wachsboden so aufgesteckt, dass die Mesometriumseite dem Wachse zugekehrt war, worauf vom Tubenende her möglichst genau dem Ansatze des Mesometriums gegenüber mit einer scharfen Scheere ein etwa 1 Cm. breiter Muskelstreifen so ausgeschnitten wurde, dass die Schleimhaut frei zutage lag. Erst jetzt goss KEIBEL Pikrinschwefelsäure oder Salpetersäure von 4% in die Wanne, riss sodann unter diesen Flüssigkeiten mit zwei spitzen Pincetten die Schleimhaut vorsichtig ein, glich dabei die Schleimhautfalten möglichst aus und brachte das Ei durch sanftes Schütteln zum Flottiren. Die vielfach gefalteten, oft über 1 Meter langen Eier aus dem Uterus in toto herauszubekommen, erfordert Zeit und Mühe. Ist der Embryo oder die Keimscheibe an dem Ei gefunden, so ist es rathsam, dieselben sofort in Sicherheit zu bringen. KEIBEL schnitt sie aus dem Ei heraus und fixirte sie noch gesondert in Pikrinschwefelsäure oder Salpetersäure von 4%, einzelne auch in koncentrirter wässeriger Sublimatlösung.

Erwärmte Kochsalzlösung von 0,75%, wie sie BONNET bei der Präparation von Schafeiern angewandt, hat KEIBEL bei Eröffnung der Uteri nicht benutzt, weil ihm frühere Erfahrungen gezeigt hatten, dass die ganz jungen, zarten Keime dadurch etwas beeinträchtigt werden. Nach WEYSSE dagegen schadet ein ganz kurzer Aufenthalt der Keime in der Kochsalzlösung, in welcher es sich leichter als in den die Instrumente angreifenden Fixirungsflüssigkeiten präpariren lässt, nicht. WEYSSE benutzte eine auf 40° erwärmte Lösung.

Bei der Präparation der kleinen Hundeeier entfernte BONNET an dem herausgeschnittenen, in einer Glaswanne mit Wachsboden festgesteckten Uterus mit einer COOPER'schen Scheere die Mesometrien mit einem Theile der Muscularis uteri bis auf die Schleimhaut. Darauf wurde die Schleimhaut vorsichtig mit spitzen Pincetten in 75%iger, auf 37—38° C. erwärmter Kochsalzlösung eröffnet. Die kleinen, durchsichtigen Keimblasen, welche leicht zu übersehen sind, werden aus der Kochsalzlösung mit einem möglichst glatten Hornlöffel herausgefischt und in ein Schälchen mit Fixirungsflüssigkeit (besonders Sublimatkochsalzlösung, dann auch KLEINENBERG'sche Flüssigkeit, 4%ige Salpetersäure, $^{1}/_{10}$%ige Chromsäure; letztere nur für ganz junge Keimblasen) übergeführt.

Handelt es sich um kleine Thiere mit dünnwandigen Tuben und Uterus, so kann man auch den herausgeschnittenen und frei präparirten Genital-

traktus in toto fixiren (Sublimateisessig, Sublimateisessigformol, Pikrinsublimat u. a.). Bei der Fixirung ist darauf zu achten, dass Tuben und Uterus in möglichst geradlinig gestrecktem Zustande gehärtet werden. Nach der Fixirung und Härtung wird der Genitaltraktus in Abschnitte zerlegt, die nach der Einbettung mit ihrem Inhalt in Serien mikrotomirt werden. Um unnütze Arbeit zu vermeiden, sieht man die Objektträger mit den aufgeklebten Schnitten vor der Schnittfärbung unter dem Mikroskope durch und entfernt die Objektträger, auf welche keine Keimblasendurchschnitte entfallen sind.

Nach der Anheftung der Keimblasen im Uterus ist der letztere, wenn irgend möglich, an der Seite aufzuschneiden, welche der Anheftungsstelle des Embryos gegenüberliegt. Beim Kaninchen, bei welchem die Anlagerung stets an der mesometrischen Seite erfolgt, muss der Uterus daher an der antimesometrischen Seite geöffnet werden, beim Maulwurf und Igel dagegen gerade umgekehrt an der mesometrischen. Beim Hunde ist die Lage des Embryo nach Bonnet keine konstante und wird bald an der mesometrischen, bald an der antimesometrischen Wand, bald zwischen beiden angetroffen.

Die Eröffnung des Uterus ist an bestimmte Kautelen geknüpft, von deren Innehaltung die Gewinnung eines unverletzten Embryos abhängt.

Um ein Platzen der Keimblasen durch die Kontraktionen der Uterusmuskulatur bei der Eröffnung zu vermeiden, wartet man, bis der Uterus erkaltet und erschlafft ist und auf den Schnittreiz nicht mehr reagirt. Die Streifen der Mucosa, an welcher der Embryo sitzt, werden mit Nadeln in einer mit Wachs belegten Präparatenschale festgesteckt, worauf die Präparation des Embryos mit möglichst glatt polirten Instrumenten erfolgt und am besten unter einer Flüssigkeit vorgenommen wird.

Van Beneden und Julin benutzten hierzu blutwarmes Serum von Kronecker (Seesalz 6 Grm., Aetznatron 0,06 Grm., Wasser 1 Liter) und erhielten darin, den Embryo (Kaninchen, Fledermäuse) Stunden lang am Leben.

Selenka räth bei der Präparation von Beutler- (Didelphys-) Embryonen die dem trächtigen Weibchen entnommenen Uterushörner, bevor sie geöffnet werden. 5—7 Minuten in absoluten Alkohol zu legen, um die Muskulatur abzutödten. Unterlässt man diese Vorsichtsmassregel, so quillt beim Ausschneiden der Uteruswand das weiche Drüsengewebe heraus, so dass die Keimblasen durch die zusammenfallenden Wände des Uterus zerquetscht und gesprengt werden.

Bei den Fruchtblasen kleiner Säugethiere fand ich es zweckmässig, die Blasen uneröffnet mit einem leicht eindringenden Reagens, z. B. Zenker'scher Flüssigkeit, zu fixiren und erst nach der Härtung in Alkohol zu präpariren. In anderen Fällen kann es besser sein, die Fruchtblasen zu eröffnen, das ganze Präparat aber möglichst im Zusammenhang zu lassen, in situ zu fixiren und erst nach der Fixirung auszupräpariren.

Aelteren Früchten wird die Leibeswand eröffnet, damit die Konservirungsflüssigkeit eindringen kann.

2. Fixirung und Färbung.

van Beneden fixirte die ersten Stadien (Furchungsstadium und Blastoderm von Kaninchen) mit 1%iger Osmiumsäure. Das den Tuben oder dem Uterus lebend entnommene Ei wurde auf einem Objektträger in einen Tropfen 1%iger Lösung und von da in Müller'sche Lösung gebracht. Nach einer Stunde wurde die Flüssigkeit gewechselt und das Präparat auf 2—3 Tage in eine feuchte Kammer gelegt. Dann fügte van Beneden einen Tropfen sehr verdünnten Glycerins und darauf reines Glycerin hinzu und bewahrte

das Ei schliesslich in reinem, mit etwas Ameisensäure versetztem Glycerin auf. Direkte Einwirkung von MÜLLER'scher Flüssigkeit, Pikrinsäure und Chromsäure schädigen das Ei sehr. Das Ei kann nach Behandlung mit Osmiumsäure auch mit Karmin oder Pikrokarmin gefärbt werden.

Ich kann nach eigener Erfahrung dieses VAN BENEDEN'sche Verfahren für kleine Säugethiere sehr empfehlen, halte aber die Behandlung mit MÜLLER'scher Lösung für überflüssig. Der durch Ausdrücken der Tuben gewonnenen, eierhaltigen, mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Masse fügte ich einige Tropfen 1%iger Osmiumsäure hinzu oder liess einige Zeit Osmiumsäuredämpfe einwirken. Sodann wird ohne weiteres erst verdünntes, dann stärkeres Glycerin hinzugesetzt, worauf die Präparate hierin vor Druck seitens des Deckgläschens durch zwischengelegte Glassplitterchen geschützt, eingeschlossen werden.

Um die Zellgrenzen des Blastoderms vom Kaninchen gut zur Darstellung zu bringen, brachte VAN BENEDEN die Eier in eine $^1/_3$%ige Lösung von Silbernitrat auf $^1/_2$—2 Minuten, spülte dann in Wasser ab und exponirte das Präparat dem Lichte. Die Präparate sind aber nach wenigen Tagen verdorben, da sie zu dunkel werden.

Vier Tage alte und ältere Keimblasen vom Kaninchen öffnete VAN BENEDEN mit Nadeln, färbte das Blastoderm mit Pikrokarmin, Karmin, Hämatoxylin, Eosin oder Anilinfarben, auch mit Argentum nitricum und Goldchlorid und breitete es dann auf einem Objektträger in Glycerin oder Balsam zur Untersuchung aus. Die besten Präparate erhielt er sowohl durch Färbung mit Pikrokarmin und Einschluss desselben in Glycerin, dem etwas Pikrinsäure zugesetzt war, als auch durch Färbung mit Hämatoxylin und Einschluss in Kanadabalsam.

Um die Keimscheiben zur Anfertigung von Schnitten vorzubereiten, fixirte VAN BENEDEN 24 Stunden mit Chromsäure (1 Theil auf 400 Theile Wasser). Die Chromsäure härtet die Keimblase und lässt dabei die Ektodermzellen in Kontakt mit der Zona pellucida.

Zu gleichem Zweck verwandte VAN BENEDEN die Pikrinschwefelsäure. Die letztere hat gerade bei Säugethieren vielfache Anwendung gefunden und wird sehr empfohlen von v. KÖLLIKER (Kaninchen), HENNEGUY (Keimscheiben und ältere Embryonen von Kaninchen), PIERSOL (ältere Embryonen von Kaninchen), SELENKA (uneröffnete, trächtige Uteri des Mus), KEIBEL und WEYSSE (Keimscheiben vom Schwein), HUBRECHT (Erinaceus, Sorex), CARIUS (Meerschwein).

Bei der Konservirung der frühen Keimblasen von Didelphys erhielt SELENKA mit der Pikrinschwefelsäure, welcher $^1/_{10}$% Chromsäure zugesetzt war, die besten Präparate. Nach dem Entsäuern wurden die Präparate in Boraxkarmin oder Hämatoxylin durchgefärbt.

Dieselbe Pikrinschwefelchromsäure benutzte auch KEIBEL zur Fixirung von Embryonen von Meerschweinchen und Kaninchen. Färbung mit Boraxkarmin; dem zum Entwässern dienenden Alkohol wurde ein geringes Quantum Pikrinsäure zugesetzt.

Auch 3- und 5%ige Salpetersäure ist vielfach in Anwendung gekommen.

In neuerer Zeit haben sich zur Fixirung von Säugethierkeimscheiben und Embryonen, besonders auch zum Studium der feineren Zellstruktur, der Befruchtungs- und Theilungsvorgänge u. s. w. FLEMMING'sche und HERMANN'sche Lösung und Sublimatmischungen sehr bewährt. In den ersteren verbleiben die Embryonen je nach Grösse 24 Stunden bis 4 Wochen.

Als Sublimatlösungen empfehlen sich koncentrirte wässerige Lösung, koncentrirte Sublimatlösung in 0,5%iger Kochsalzlösung, dann besonders Eissessigsublimat (5% Eisessig), ferner ZENKER'sche Flüssigkeit, RABL'sche Sublimatpikrin- und Platinchloridgemische.

Da nach VAN BENEDEN und Graf SPEE sich die Zona pellucida der Säugereier (Kaninchen, Fledermaus, Meerschweinchen) in Säuren löst, müssen diese vermieden werden, wenn es auf Darstellung der Zona ankommt. Alsdann sind zur Fixirung Lösungen von Sublimat, Formol, Alkohol und auch Osmiumsäure zu benützen, in der die Zona sich erhält.

Von besonderem Werthe ist die von Graf SPEE (bei dem Meerschweinchen) angewandte Methode der Nachosmirung, welche sich vorwiegend zur Erzielung scharfer Ausprägung von Zellkonturen bei sehr guter Erhaltung der sonstigen histologischen Strukturen und Lageverhältnisse im Präparate eignet. Die Erhaltung scharfer Ausprägung der Zellkonturen im Präparat ist zur Zeit der Einbettung des Säugereies in die Uteruswand deshalb nöthig, weil, wie SPEE nachgewiesen, in der Umgebung des Eies Histolysen auftreten, die mit Schwund von Zellkonturen verknüpft sind. Graf SPEE härtete (nach mir freundlichst übermittelter brieflicher Mittheilung) das Uterushorn des Meerschweinchens in Sublimatlösung (halb oder ganz gesättigter). In 12—24 Stunden pflegt diese ganz durchgedrungen zu sein. Dann wird das Objekt oberflächlich abgespült und im Dunkeln in eine hinreichende Menge einer $^1/_2{}^0/_0$igen Osmiumlösung gelegt, in welcher es sich ein wenig hellbraun färbt. Die Osmiumlösung dringt merkwürdig rasch durch das ganze Präparat, so dass dasselbe gleichmässig durchosmirt ist. Ist letzteres geschehen, so wird kurze Zeit mit fliessendem Wasser der im Präparate etwa noch vorhandene Rest von Osmiumlösung ausgewaschen; dann kommt das Präparat in Jodalkohol und wird von Sublimatresten dadurch befreit, in der üblichen Weise mit Alkohol nachbehandelt und mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin nachgefärbt. Während des Verweilens in Jodalkohol tritt die Reduktion des im Präparat fixirt gebliebenen Osmium ein, wobei das Präparat dunkelbraun bis schwärzlich werden kann. Will man die Sublimatfixirung beschleunigen, so empfiehlt sich nach SPEE, zu diesem Zweck vorsichtig durch die Gefässe, welche zum Uterus hinführen, nach vorheriger Ausspülung derselben mit einer das Blut nicht zur Gerinnung bringenden Flüssigkeit, Sublimatlösung zu injiciren. Das Gewebe ist dann fast augenblicklich fixirt, die Gefässe darin haben offenstehende blutleere Lumina und saugen von einer am Präparat angebrachten Schnittfläche aus wie ein Schwamm alle für die weitere Nachbehandlung angewendeten Flüssigkeiten viel rascher auf als Präparate, die nach der gewöhnlichen Methode behandelt sind.

SOBOTTA fixirte zum Studium der Befruchtungs- und Furchungsvorgänge die Tuben und Ovarien der Maus in schwacher FLEMMING'scher Lösung 24 Stunden lang.

WINIWARTER benutzte zur Konservirung junger Embryonen vom Kaninchen ein Gemisch von 50 Ccm. gesättigter Sublimatlösung (in Kochsalzlösung von $^1/_2{}^0/_0$), 50 Ccm. Alkohol von $95^0/_0$, 20 Ccm. $1^0/_0$iger Lösung von Platinchlorid und 5 Ccm. Essigsäure.

Nach NEUMAYER ist das beste Fixirungsmittel für Schafembryonen das CARNOY'sche Gemisch von Eisessig 1 Theil, absoluten Alkohol 6 Theile und Chloroform 3 Theile.

Zur Fixirung uneröffneter, keimblasenhaltiger Uteri mit etwas dickerer Wandung leistete mir die Mischung von in der Wärme gesättigter Sublimatlösung 500,0, $4^0/_0$iger Formollösung 200,0, Alkohol absolutus 300,0, Eisessig 25,0 gute Dienste.

Für Färbung dienen Karmin und Hämatoxylinlösungen; für das Studium der Befruchtung Eisenhämatoxylin. Zur Färbung der aufgeklebten Serienschnitte ist besonders zu empfehlen die Tinktion mit dünnen Hämatoxylinlösungen und nachfolgender Eosinfärbung.

Litteratur: Bonnet (Arch. Anat. 1884), derselbe (Anat. Hefte, Bd. 9, 1897), Carius (Ueber die Entwicklung der Chorda und der primitiven Rachenwand beim Meerschweinchen und Kaninchen, 1888), Hubrecht (Quart. Journ. Micr. Sc., Bd. 30, 1889), derselbe (ebenda, Bd. 31, 1890), Keibel (Arch. Anat., 1889), derselbe (Morph. Arb., Bd. 3, 1893), Kölliker (Festschr., Würzburg 1885), Mayer (Lee und Mayer), Neumayer (Festschr. f. Kupffer, 1899), Piersol (Zeit. wiss. Zool., Bd. 47, 1888), Selenka (Studien zur Entwicklungsgeschichte der Thiere, Heft 1, Wiesbaden 1883), derselbe (ebenda, Heft 4, 1886/87), Sobotta (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), Graf v. Spee (Zeit. Morph. Anthrop., Bd. 3, 1901), van Beneden (Arch. Biol., Bd. 1, 1880), derselbe und Julin (ebenda), Weysse (Proc. Amer. Ac. Arts Sc., Bd. 30, 1894), Winiwarter (Arch. Biol., Bd. 17, 1901).

Ballowitz, Greifswald.

Embryoskop siehe Experimentell-embryologische Technik.

Emodin siehe Chrysophansäure.

Emulsin siehe Enzyme.

Endozymase siehe Enzyme.

Endotrypsin siehe Enzyme.

Enteropneusten siehe Würmer.

Entfetten siehe Knochen und Zähne, Bearbeitung derselben.

Entkalken siehe Knochen und Zähne, Bearbeitung derselben.

Entkieseln siehe Knochen und Zähne, Bearbeitung derselben.

Entpigmentiren siehe Pigment.

Entsäuern siehe Knochen und Zähne, Bearbeitung derselben.

Entwässern siehe Paraffineinbettung.

Enzyme. Der mikrochemische Nachweis der in den Organismen eine so bedeutsame Rolle spielenden Enzyme ist eindeutig bisher für keines geglückt, ihre Wirkung auf die von ihnen zersetzbaren Substanzen ist das einzige Kriterium. Doch ist auch dies nicht einwandsfrei, da die Anwesenheit anderer Stoffe ihre Wirkung oft vollständig aufhebt, respektive bis zur Unmerklichkeit verlangsamt. So übt z. B. Diastase in hinreichend koncentrirter Maltose- oder Glycerinlösung keine erkennbare Wirkung auf Stärke aus. Die Enzyme sind wahrscheinlich Eiweisskörper oder wenigstens immer eng mit Eiweisskörpern vergesellschaftlicht, so dass die bisher dargestellten Enzyme alle Eiweissreaktionen zeigen (siehe Eiweissstoffe in Pflanzenkörpern) zumal Xanthoproteïnreaktion geben. Allgemein werden Enzyme aus ihren Lösungen — die manchmal aus Pflanzen nur durch Zerreiben mit Kieselguhr und durch hohen Druck zu gewinnen sind (Hefezymase nach Buchner) — hauptsächlich nach 2 Methoden zusammen mit Eiweiss gefällt: 1. durch Zufuhr eines Alkoholüberschusses zur Lösung und 2. durch Sättigung der Lösung mit neutralem Salz. Nach ersterer wäre z. B. die Darstellung der Diastase vorzunehmen (Lindner): Grünmalz oder lufttrockenes Malz 1 Theil wird 24 Stunden lang mit 2—4 Theilen 20%igen Alkohols extrahirt, der Alkohol abfiltrirt und mit $2\frac{1}{2}$ Theilen seines Volumens mit absolutem Alkohol gemischt. Der Niederschlag wird mit absolutem Alkohol gewaschen, dann in absolutem Alkohol im Mörser tüchtig gewaschen, im Exsiccator getrocknet. Zur weiteren Reinigung wieder in Wasser gelöst und in Alkohol gefällt; schliesslich dialysirt. Für Reaktionen im Einzelnen kommen in Betracht:

1. Die unlösliche Kohlenhydrate in löslichen Zucker überführenden Fermente, als: *a)* Diastase aus Pflanzen, Ptyalin des thierischen Speichels, Pankreasdiastase etc., die Stärke in Zucker, Maltose, überführt, daneben

auch in Dextrin. Werden diastasehaltige Pflanzentheile in eine dunkelbraune absolut alkoholische Lösung von Guajakkaharz (ohne Aether!) gebracht, bis sie durchtränkt, der Alkohol abgedunstet und sie dann in eine verdünnte Lösung von Wasserstoffsuperoxyd überführt, so färben sich die diastasehaltigen Zellen lebhaft blau. Es beruht dies aber nicht auf der hydrolytischen, sondern der katalytischen, Sauerstoff übertragenden Wirkung der Diastase und es wäre möglich, dass dies einer permanent mit ihr vergesellschafteten Oxydase (siehe unten) zukäme, zumal das diastatische Enzym von Penicillium diese Wirkung nicht ausübt. Im Einzelnen wird unterschieden in Translokations- und Sekretionsdiastase. Erstere kommt überall in der Pflanze vor, löst Stärke ohne Korrosion, löst sehr langsam Stärkekleister, während lösliche Stärke leicht in Zucker überführt wird. Sekretionsdiastase wird im keimenden Pflanzensamen vom Embryo und der Aleuronschicht ausgeschieden, korrodirt und zertrümmert Stärke vor der Lösung und verflüssigt rasch Stärkekleister. *b)* Inulase, die Inulin in Zucker (Lävulose) verwandelt, in Artischockenkeimlingen. *c)* Cytase, Cellulose lösend, in Pilzen und keimenden Samen vorkommend.

2. Enzyme, die Polysaccharide, meist Biosen in Hexosen umwandeln, von denen die wichtigsten: *a)* Invertase, die Rohrzucker in Traubenzucker und Fruchtzucker (oder zusammen Invertzucker) umwandelt; *b)* Glukase (Maltase), die Maltose und einige andere Zucker zerspaltet und die in den mannigfaltigsten thierischen und pflanzlichen Organen vorkommt, ohne dass für sie eine Specialreaktion bekannt wäre.

3. Gleichfalls zum grössten Theil hydrolysirende Wirkung haben die die Glykoside (siehe diese) spaltenden Enzyme. *a)* Das Amygdalin (Indikan und verschiedene andere Glykoside) spaltende Emulsin (Synaptase). Es kommt in ganz bestimmten Zellen (Blätter des Kirschlorbeers, Prunus laurocerasus) vor, die, mit Amygdalinlösung betupft, Blausäure entwickeln. Die gleichen Zellen färben sich mit Eiweissreagentien (MILLON's Reagens und Biuretreaktion, siehe Eiweissstoffe der Pflanzenzelle) viel intensiver als die übrigen. *b)* Das das Sinapin (myronsaures Kali) spaltende Myrosin der Cruciferen. Es ist besonders deutlich in den »Eiweissschläuche« genannten Idioblasten der Blätter (Raphanus sativus), die frisch wasserhell, mit Alkohol, kochendem Wasser oder Pikrinsäure behandelt, dichten geronnenen Inhalt zeigen. Sie geben starke Eiweissreaktion und färben sich mit Salzsäure, zu der auf je 1 Ccm. 1 Tropfen 10%ige Orcinlösung zugefügt ist, bei Erhitzen auf nahezu 100° dunkelviolett. Noch einige andere Enzyme gehören hierher.

4. Enzyme, die Eiweiss spalten: Proteolytische Enzyme. Auch für sie sind mikrochemische Reaktionen unbekannt, wenn man nicht die ganz unsichere mit Orcin dazu rechnen will. Orcin in obiger Lösung färbt die Enzymlösung roth und giebt schmutzigvioletten Niederschlag. *a)* Pepsin ist das typisch proteolytische Enzym des Magensaftes, kommt aber auch sonst weit verbreitet im thierischen Organismus, sehr selten im pflanzlichen (Droserablätter) vor. Es baut Eiweiss bis zu den Peptonen ab und wirkt am besten bei Gegenwart von etwa 0,5% Salzsäure. Dagegen wird es bei Anwesenheit von 0,5% Soda in wenigen Sekunden zerstört. *b)* Trypsin ist das proteolytische Enzym des Pankreas, ist im thierischen Organismus weit verbreitet, ebenso auch im pflanzlichen. Endotrypsin der Hefe, Bromelin in der Ananas, Papaïn in der Frucht des Melonenbaumes. Es baut Eiweiss bis zum Leucin, Tyrosin, Asparagin etc. ab und wirkt am besten bei Anwesenheit von 0,9 bis 1,2% Soda (kleine Mengen freier Säure wirken schädlich und zerstörend). Ueber Verdauungssäfte und Anwendung siehe Eiweissstoffe im Pflanzenreich und Zellchemie.

5. Eng verwandt den proteolytischen, meist mit ihnen vergesellschaftlicht, und auch selbst wohl von proteolytischer Wirkung sind Gerinnungsenzyme oder Lab, die aus gelösten

Körpern gallertartige Substanzen bilden und alle nur bei Anwesenheit von Kaliumsalzen wirken können. *a)* Milch koagulirend: Käselab, der sowohl im thierischen Organismus (im Magen junger Thiere, Kälber), Pankreassaft, aber auch sonst in Pilzen, Bakterien und höheren Pflanzen (Galium verum, Carica papeia) verbreitet ist, ohne dass wir für ihn irgend eine Lokalreaktion besässen. *b)* Thrombase bei der Koagulation des Blutes. *c)* Pektase verwandelt die Pektinsäuren in Gallerte und wirkt bei Bildung vegetabilischer Gallerten (überall in Pflanzen, besonders in kräftig wachsenden Mohrrüben und Luzernenblättern).

6. Enzyme, die Oele und Fette in Fettsäuren und Glycerin spalten, Lipasen (Pialyn und Steapsin). Sie kommen vor im Pankreassaft und auch sonst im thierischen Organismus, hauptsächlich aber in ölhaltigen Samen (Embryonen von Ricinussamen). Der Nachweis kleiner Mengen geschieht am besten, wenn man eine Emulsion mit kleingepulvertem Gummi arabicum und wenig Wasser darstellt. Nach sorgfältiger Neutralisirung wird Lackmuslösung zugesetzt und bei etwa 40° digerirt: Jede entstehende Fettsäure macht sich durch die Röthung des Lackmus bemerkbar.

7. Das hydrolysirende Enzym des Harnstoffes, die ammoniakalische Gährung verursachende Urase wurde aus einer Reihe von Mikroorganismen hergestellt.

8. Oxydirende, respektive katalysirende Fermente, Oxydasen. Die Pflanzenoxydasen lassen sich allgemein in drei Gruppen ordnen: α-Oxydasen färben Guajaklösung (siehe oben) bereits an der Luft blau, sie werden zerstört mit Alkohol in 10 Minuten bei 50—53° (in der ruhenden Kartoffel unter der Rinde). β-Oxydasen färben nach obiger Alkoholbehandlung Guajaklösung und Wasserstoffsuperoxyd blau. Hierzu gehört vor allen das überall in den Siebröhren vorkommende Leptomin (Raciborsky, als Reagens auf Siebröhren benutzt). Sie ist eng mit der Translokationsdiastase (siehe oben) vergesellschaftet oder identisch. γ-Oxydase verträgt $^1/_4$—1 Stunde Siedetemperatur des absoluten Alkohols (Wundperiderm der Kartoffel, keimende Gerste), sie ist der Sekretionsdiastase vergesellschaftet oder ihr identisch. Erwähnenswerth sind noch die lackbildende Laccase und die die Schwarzfärbung der Pilze an der Luft bewirkende Tyrosynase, als Reagens dient Hydrochinin, das bei Einwirkung des Enzyms rasch roseuroth wird unter Aufnahme des Sauerstoffs der Luft, während es sonst an der Luft unverändert bleibt.

9. Das alkoholische Gährung bewirkende Enzym, Buchner's Eudozymase der Hefe, ohne specielle chemische Reaktion.

Litteratur: Green (Die Enzyme, übersetzt von Windisch, Berlin 1901), Gruss (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 16, 1898), Guignard (Comp. rend., Bd. 110 und 111, 1890).

Magnus, Berlin.

Eosin. Unter dem Namen Eosin sind eine Reihe von Farbstoffen fabriksmässig dargestellt, im Handel käuflich und zum Theil für die mikroskopische Technik in Anwendung, welche chemisch nahe verwandt sind. Einige ebenfalls in die gleiche Gruppe gehörende tragen andere Bezeichnungen. Sie mögen zunächst in Folgendem, soweit sie von Bedeutung sind, verzeichnet werden.

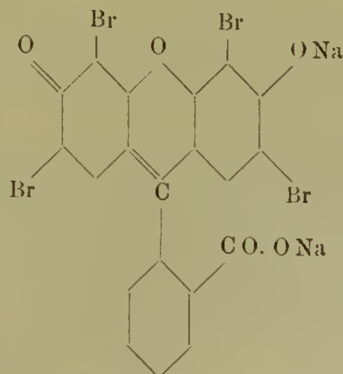
I. Verschiedene Farben der Eosingruppe und ihre Eigenschaften.

1. »Eosin« (schlechtweg) oder »Eosin gelblich« oder »wasserlösliches Eosin«.

Wichtigere synonyme Fabriksbezeichnungen: Eosin A (Ludwigshafen), Eosin G extra (chem. Fabrik Weyler ter Meer, Uerdingen a. Rh.), Eosin extra (Höchst).

Dieser von Caro entdeckte Farbstoff ist das Alkalisalz des Tetrabromfluoresceïn ($C_{20}H_6O_5Br_4Na_2$ oder $C_{20}H_6O_5Br_4K_2$).

Wahrscheinliche Formel:



Die Darstellung erfolgt durch Bromiren von Fluoresceïn, einer schwachen und schwach färbenden, schön fluorescirenden Säure in alkoholischer oder wässeriger Lösung.

Der Farbstoff bildet kleine, rothe, etwas bläulich glänzende Krystalle oder ein bräunlichrothes Pulver und ist in Wasser leicht löslich. In koncentrirter Lösung sieht er dunkelviolett aus, in verdünnter rothgelb bis rosaroth und zeigt stark gelbgrüne Fluorescenz. In Alkohol ist er ebenfalls leicht löslich, koncentrirt rothgelb, verdünnt rosaroth mit noch besonders intensiver, gelbgrüner Fluorescenz.

2. Eosin spirituslöslich »Methyleosin«.

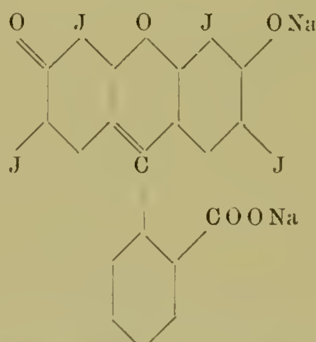
Der Farbstoff ist das Alkalisalz des Tetrabromfluoresceïnmethylesters. Darstellung durch Methylirung des Eosin. Grünglänzendes Pulver oder Blättchen. Im kalten Wasser schwer, kirschroth löslich; in Alkohol mit rother Farbe löslich, bräunlichgelbe Fluorescenz; das Aethyleosin, ähnlicher Konstitution und Eigenschaften, hat wie das Vorige für die Mikroskopie noch keine Bedeutung gewonnen.

3. Eosinscharlach oder Safrosin.

Alkalisalze des Dibromdinitrofluoresceïn, welche durch Nitriren der (wässerig gelösten) Dibromverbindung oder Bromiren der (alkoholisch gelösten) Dinitroverbindung des Fluoresceïn entstehen. In Wasser leicht mit gelbrother Farbe löslich; verdünnt schwach grüne Fluorescenz. In der Mikroskopie wenig eingeführt.

4. Erythrosin oder Jodeosin (Eosin bläulich).

Alkalisalze des Dijod- und des Tetrajodfluoresceïns, $C_{20}H_6O_5J_4Na_2$ (oder K_2), Konstitution:



Darstellung durch Jodiren von Fluoresceïn in wässeriger oder alkoholischer Lösung. Braunes Pulver, in Wasser mit kirschrother Farbe löslich, ohne Fluorescenz.

5. Rosebengale.

Alkalisalze des Tetrajoddichlorfluoresceïn, durch Einwirkung von Jod auf Dichlorfluoresceïn dargestellt.
Braunes Pulver, in Wasser leicht mit kirschrother Farbe löslich ohne Fluorescenz.

6. Phloxin.

Natriumsalz des Tetrabromtetrachlorfluoresceïn. Ziegelrothes Pulver, in Wasser leicht löslich mit blaurother Farbe und schwach dunkelgrüner Fluorescenz, in Alkohol löslich mit blaurother Farbe und ziegelrother Fluorescenz.

II. Allgemeine Verwendung der Eosinfarbstoffe in der mikroskopischen Färbetechnik.

Das Eosin (und alle seine Verbindungen) gehört als Karbonsäure zu den sauren zweibasischen Farbstoffen.

Im speciellen gehört es nach Caro, Baeyer und seinen Schülern zu den Farbkörpern der Fluoresceïnreihe, der Phtaleïne. Wird im Fluoresceïn, dem Anhydrid des Resoreinphtaleïn, der Wasserstoff in der Resorcinreihe durch Brom möglichst ersetzt, so erhält man Tetrabromfluoresceïn, dessen Kalisalz das Eosin ist.

Seine Verwendung für die Gewebsfärbung, soweit sie in chemischem Sinne erfolgen soll, ist abgegrenzt: Nur mit oxyphilen Elementen der Zelle kann der Farbstoff eine chemische Verwandtschaft haben. Doch hat das Eosin auch die Fähigkeit in physikalischer* Weise, d. h. als Tünche, leicht zu färben, wiewohl die erzielte Färbung im allgemeinen unschwer durch ziemlich indifferente Extraktionsmittel entfernt werden kann.

---

* Ueber chemische und physikalische, über echte und unechte Färbung s. Pappenheim. Mikroskopische Färbetechnik.

Die oxyphilen Gewebsbestandtheile, die zu allen sauren Farbstoffen eine besondere mikrochemische Verwandtschaft haben, bezeichnet man gern als eosinophile; obwohl sie im allgemeinen alle sauren Anilinfarbstoffe, manche sogar noch in höherem Masse als Eosin, an sich zu binden geneigt sind, so ist beim Eosin diese Eigenschaft zuerst erkannt worden und kann in der Regel mit ihm am markantesten dargestellt werden.

Man bedient sich hierzu des Eosins sowohl in wässeriger als in alkoholischer und selbst in glyceriniger Lösung und benutzt nur das »Eosin gelblich«, welches am besten färbt. Die wässerigen Lösungen werden ebenso wie die alkoholischen im allgemeinen 0·5%ig genommen, für die alkoholischen ist 70%iger Alkohol zumeist gebräuchlich. Die Vorbehandlung des Materials ist gleichgiltig, die Färbung kann bei allen Fixirungsmethoden vorgenommen werden, nicht nur an Gewebsschnitten, sondern auch am Blute und an Se- und Exkreten nach Alkoholfixation oder Fixation durch Hitze.

Die Einwirkung der Lösungen braucht nicht länger als 5 Minuten zu dauern. Nachher muss gründlich mit destillirtem Wasser, solange Farbe abgeht, gewaschen werden; mit Alkohol wird sodann (in steigender Koncentration bis zum Alkohol absolutus) so lange ausgezogen, als gröbere Farbstoffmengen damit noch entfernt werden. Für die Einbettung darf kein ätherisches Oel oder Glycerin, sondern nur Xylol und Kanadabalsam oder Paraffinum liquidum verwendet werden.

Im Protoplasma treten dann so die eosinophilen Granula besonders hochroth hervor, während das übrige Gewebe blasser gefärbt bleibt. Doch zeigt der Zellleib der Organe ohnehin eine gewisse Affinität zum Eosin; er hält den Farbstoff zurück, ja er färbt sich nicht ganz diffus, sondern mehr oder weniger strukturirt. Da das Protoplasma für basische Farbstoffe keinerlei Verwandtschaft hat, während es sich auch mit anderen sauren Farben stets mehr oder weniger intensiv, je nach dem Färbevermögen des Farbstoffes, tingirt, so beruht diese Eigenschaft der Rothfärbung des Zellleibes durch Eosin auf der Oxyphilie desselben, und wir haben allen Grund, diese wiederum auf basische Eigenschaften desselben im chemischen Sinne zurückzuführen.

Anders wie der Leib der Zellen verhält sich der (basophile) Kern dem Eosin gegenüber, er färbt sich nur äusserst schwach und homogen bei längerer Einwirkung stärkerer Lösungen und giebt beim Auswaschen die Farbe sehr leicht wieder ab.

Intensiv färbt sich wiederum das Kernkörperchen mancher Zellen und erweist sich damit im Gegensatz zum Kern als oxyphil. Eine besondere Verwandtschaft hat das Eosin noch zum Hämoglobin der rothen Blutkörperchen, besonders nach Formol-, Chrom- oder Pikrinsäurefixation. Bei den Keimsubstanzen endlich färbt es, wie Auerbach gezeigt hat, stets den »erythrophilen« Antheil.

III. Specielle Anwendung der Eosine in der Färbetechnik.

1. Eosin gelblich.

a) Am häufigsten findet Eosin Verwendung in Verbindung mit kernfärbenden Mitteln, namentlich mit Hämatoxylin. Nach der Färbung mit letzterem kommen die Schnitte in eine Lösung von 0,5% Eosin in 70%igem Alkohol. In 2—5 Minuten sind sie intensiv roth und werden in destillirtem Wasser so lange ausgewaschen, als Farbe abgeht. Sodann kommen sie in absoluten Alkohol, in dem sie nur so lange verweilen, als gröbere Farbstoffmengen abgehen. Nur dann behält der Zellleib die rothe Farbe kräftiger zurück, während er bei langer Alkoholbehandlung ganz blassrosa wird; die eosinophilen Granulationen, oft auch die Adventitia

der Gefässe, der Blutfarbstoff der rothen Blutkörperchen, zuweilen auch die Nukleoli, die hyalinen und kolloiden Bestandtheile, sowie das osteoide Gewebe, behalten den Farbstoff länger und in intensiver Nuance zurück. Aus dem Alkohol kommen die Schnitte in Xylol und von da in Kanadabalsam.

Das Verfahren wird in gleicher Weise auch bei der Blutfärbung, sowohl an Alkohol- wie an Hitzepräparaten verwendet.

Die Anwendung eines Gemisches von Hämatoxylin und Eosin (Renaut) empfiehlt sich nicht.

b) Methylenblau-Eosinfärbung.

Es wird meistens mit einem Gemisch beider Farbstoffe gefärbt (siehe neutrale Farben und neutrale Farbgemische). Doch wird zuweilen die Nacheinanderfärbung geübt. Man färbt zunächst mit starker Methylenblaulösung (1%iger) längere Zeit, etwa eine Stunde, wäscht mit Wasser und Alkohol, so lange deutlich Farbe ausgezogen wird, und färbt 1—2 Minuten in ½%iger Lösung in 70%igem Alkohol. Dann Entwässern in Alkohol, so lange Farbstoff in gröberen Wolken extrahirt wird. Xylol, Kanadabalsam.

Ausser Hämatoxylin und Methylenblau ist noch Krystallviolett (Sjöbring) empfohlen worden, ferner Toluidinblau (Harris), Gentiana (Unna'sche Modifikation der Weigert'schen Fibrinfärbung), Dahlia, Methylviolett und Anilingrün (Schiefferdecker).

c) Eosinmethylgrün nach List.

Zwei Lösungen. Lösung I: 0,5 Grm. Eosin, 100 Ccm. Aq. dest. und 300 Ccm. Alk. abs. Lösung II: ½%ige wässerige Methylgrünlösung. Man färbt 15 Minuten in Lösung I, wäscht aus und färbt 5 Minuten in Lösung II. Dann wird ausgewaschen und in Alkohol so lange ausgezogen, bis die Eosinfarbe wieder erscheint.

d) Eosinmethylblau nach Mann.

35 Ccm. 1%iger Methylblaulösung 35 Ccm. 1%iger wässeriger Eosinlösung und 100 Ccm. destillirten Wassers werden gemischt. Die nach Sublimat- oder Fixation in Mann'scher Lösung (1 Grm. Pikrinsäure und 2 Grm. Tannin in 100 Ccm. gesättigter wässeriger Sublimatkochsalzlösung gelöst) hergestellten Schnitte kommen für 24 Stunden in die Farbe, werden dann in Wasser abgespült, in Alkohol entwässert und in folgende Lösung gebracht: 1%ige Natronlauge (in absolutem Alkohol) 4 Tropfen, Alk. abs. 50 Ccm.

In diesem Gemisch werden die Schnitte röthlich. Hierauf werden sie in absolutem Alkohol kurz abgespült, dann in Wasser gebracht und dort von überschüssiger blauer Farbe befreit; nach etwa 2 Minuten kommen sie in mit etwas Essigsäure angesäuertes Wasser, in welchem sie wieder blau werden und keine Farbe mehr abgeben. Einschluss in Kanadabalsam wie gewöhnlich. Die Zellen sind blau, die Kernkörperchen und die Blutgefässe roth.

e) Hämateïneosin nach Rawitz.

Färben der Schnitte in koncentrirter wässeriger Eosinlösung 24 Stunden, Auswaschen in destillirtem Wasser, Nachfärben ½—2 Minuten in reiner Hämateïnlösung oder in Hämalaun. Auswaschen in Wasser, dann in 96%igem Alkohol, bis kein Eosin mehr ausgezogen wird. Kerne dunkelblau, Mucin veilchenblau, Bindegewebe graublau, Muskeln, Protoplasma roth.

f) Eosinfärbung des Sputum nach Teichmüller.

Das Sputum wird auf dem Objektträger dünn verstrichen, über der Flamme erhitzt und sofort und noch warm auf 5 Minuten mit 0,5%iger alkoholischer (70%) Eosinlösung in Berührung gebracht. Abspülen in Wasser. Nachher Nachfärben 2 Minuten lang mit koncentrirter, wässeriger Methylenblaulösung.

g) Das Eosin bildet einen Bestandtheil von Ehrlich's acidophilem Glyceringemisch (Indulin, Eosin, Aurantia). Ueber dasselbe siehe Blutfärbungsmethode.

2. Von den übrigen, oben genannten Eosinfarben ist nur das Erythrosin in die Technik dauernd eingeführt worden.

HELD's Methode der Nervenzellenfärbung.

1. Fixation kleiner Stücke 24 Stunden in KLEINENBERG'scher Pikrinschwefelsäure. Nachhärten in allmählich steigendem Alkohol, welcher zugleich die gelbe Farbe extrahirt, oder in 96%igem Alkohol durch 3 Tage.

2. Paraffineinbettung. Die Paraffinschnitte werden auf dem Objektträger in bekannter Weise aufgeklebt.

3. Färben auf dem Objektträger 1—2 Minuten unter leichtem Erwärmen mit: Erythrosin 1 Grm., Aq. destill. 150,0. Eisessig 2 Tropfen.

4. Auswaschen im Wasser.

5. Nachfärben mit folgender Lösung: Acetonlösung (wässerig) 1 : 20 und gleiche Theile der NISSL'schen Methylenblauseifenlösung (s. d.) unter starkem Erwärmen, bis der Acetongeruch verschwunden ist, dann erkalten lassen.

6. Differenziren in $^{1}/_{20}$%iger Alaunlösung, bis der Schnitt röthlich wird (einige Sekunden bis wenige Minuten je nach der Dicke).

7. Abspülen in Wasser, rasches Entwässern in Alkohol-Xylol, Benzinkolophonium nach NISSL (s. d.), NISSL'sche Granula blau, Kernkörperchen blau, Nebennukleolen violett, Kernchromatin, Kernmembran und Grundsubstanz roth.

Litteratur: A. W. HOFMANN (Ber. deutsch. chem. Ges. 8, 1875), BAYER (ebenda 8, 1875 und LIEBIG's Annalen 183 und 202), HELLER (ebenda 28, 1895), BERNTHSEN (Chem. Zeit., 16, 1892), SCHULTZ (Chemie d. Steinkohlentheere, Bd. 2), SCHULTZ und JULIUS (Tabellen, 2. Aufl., Berlin 1897), PAPPENHEIM (Grundriss der Farbchemie, Berlin 1901), SJÖBRING (Anat. Anz., Bd. 17, 1901). HARRIS (Amer. Journ. med. science, 1898, und Philadelphia med. Journ., 1900), TEICHMÜLLER (Deutsch. Arch. klin. Med., Bd. 63, 1899), LANG (Anat. Anz., Bd. 2, 1879), BOGDANOFF (Biol. Centr., Bd. 18, 1898), UNNA (Monat. prakt. Dermat., Bd. 20, 1895), SACHAROFF (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895), AUERBACH (Sitz. Preuss. Akad., Bd. 35, 1891), LIST (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), SCHIFFERDECKER (Arch. mikr. Anat., Bd. 15, 1878), RENAUT (Compt. rend., Bd. 88, und Arch. de Phys. 1881), HELD (Arch. Anat. 1897). *Rosin*, Berlin.

Epiglottis. Zur Fixation der Epiglottis eignen sich vor allem Sublimatgemische, so die ZENKER'sche Flüssigkeit und die Pikrinsublimatessigsäure. Die Anfertigung von Paraffinschnitten macht bei nicht zu alten Thieren keine besonderen Schwierigkeiten. Von Färbungsmethoden empfehlen sich neben den gewöhnlichen Doppelfärbungen noch besonders diejenigen, welche eine Darstellung der elastischen Fasern bezwecken, vor allem ist hier die WEIGERT'sche Färbung zu empfehlen in folgender Kombination. Vorfärben der Schnitte mit Alaunkarmin, Färbung in Kresofuchsin und Nachfärbung in dem GIESON'schen Pikrinfuchsingemisch. Kerne roth, elastische Fasern schwarzblau, kollagenes Gewebe roth. Protoplasma und Grundsubstanz des Netzknorpels gelb. Zur Darstellung der Nerven der Epiglottis eignet sich neben der vitalen Methylenblauinjektion auch die Golgimethode.

Erlicki'sches Gemisch siehe Chromsaure Salze.

Erythrocyten siehe Blut.

Erythrophilie siehe Kernchemie.

Erythrosin, Alkalisalze des Tetrajodfluorescins, entsteht beim Jodiren von Fluorescin (Berlin, Höchst). Braunes, in Wasser mit kirschrother Farbe lösliches Pulver. In Schwefelsäure mit braungelber Farbe löslich. Die wässerige Lösung giebt mit Salzsäure braungelben Niederschlag, mit Natronlauge keine Veränderung. Färbt Wolle direkt und mit Thonerde gebeizte Baumwolle.

Ein ausgezeichneter Plasmafarbstoff, der vielfach dem Eosin vorgezogen wird, vor allem von HELD zur Färbung der Nervenzellen benutzt. Man verwendet ihn auch mit Vortheil in 0,2%iger wässeriger Lösung zur Nach-

färbung nach Hämatoxylin, Eisenhämatoxylin, Thionin etc. Näheres siehe Eosin und Nervenzellen.

Eserin oder Physostigmin $C_{15} H_{21} N_3 O_{21}$, zuerst in der Calabarbohne gefunden. Prismen vom Schmelzpunkte 105—106°. In kaltem Wasser nicht leicht löslich, dagegen leicht löslich in Alkohol, Aether, Benzol, Schwefelkohlenstoff und Chloroform. Die Lösung reagirt alkalisch.

Eserin ist stark giftig, indem es auf das Centralnervensystem lähmend einwirkt. Ferner bewirkt es eine starke Verkleinerung der Pupillen und findet deshalb in der Augenheilkunde Verwendung, und zwar in Form des salicyl- und schwefelsauren Salzes.

Eserinum sulfuricum hat in der Mikrotechnik durch Longhi Verwendung gefunden. Er benutzt eine Mischung, bestehend aus je 10 Ccm. einer 1,1%igen Eserinsulfatlösung und je einem Tropfen einer 1%igen Sublimatlösung, zur Konservirung von Protisten, besonders der Rhizopoden.

Litteratur: Longhi (Boll. Mus. Zool. Anal. Univ. Genova, 1892). *Mosse*, Berlin.

Essigsäure (Acidum aceticum) $CH_3.COOH$, entsteht bei der Zerstörung vieler organischer Substanzen, namentlich bei der trockenen Destillation von Holz und Zucker (Holzessig), und wird technisch auf diesem Wege bereitet.

Eine andere wichtige Darstellung beruht auf der Oxydation des Aethylalkohols zur Essigsäure ($CH_3 . CH_2 . OH \rightarrow CH_3 . COOH$), die durch Sauerstoff der Luft unter Vermittlung von Kontaktsubstanzen (Platinschwarz) oder durch den Pilz Mycoderma aceti bewirkt wird (Schnellessigfabrikation).

Reine wasserfreie Essigsäure bildet ein farbloses, stechend riechendes Liquidum (Eisessig) vom Siedepunkt 118°; bei ca. 17° erstarrt sie, wenn absolut wasserfrei, zu einer blättrig krystallinischen Masse. Spec. Gew. (bei 20): 1,0514.

Der gewöhnliche Essig ist eine 5—15%ige Lösung von Essigsäure in Wasser.

Reaktionen auf Essigsäure:

a) Reine Essigsäure darf einen Tropfen Kaliumpermanganatlösung nicht entfärben.

b) Die Dämpfe von Eisessig müssen brennen.

c) Essigsaure Alkalisalze geben mit Silbernitratlösung einen krystallinischen Niederschlag von essigsaurem Silber, das in heissem Wasser löslich ist und in der Kälte wieder auskrystallisirt.

d) Feste essigsaure Salze geben beim Glühen mit etwas Arsenik ($As_2 O_3$) einen penetranten Geruch nach Kakodyl. *Neuberg*, Berlin.

Die Essigsäure ist für sich allein kaum als ein Fixationsmittel zu bezeichnen, da sie den ganzen Zellenleib total zerstört, und daher auch nur in vereinzelten Fällen gebraucht worden, sofern es sich um Durchdringung sehr undurchlässiger Membranen handelte: für Ascariseier in Form des Eisessigs von van Beneden und Neyt; ferner für Ascidien nach einer Methode von van Beneden, die C. Maurice an Lee mitgetheilt hat (Lee und Mayer): man lässt kleine Thiere sich gut ausstrecken, steckt sie rasch mit dem Finger für 2—6 Minuten je nach der Grösse in Eisessig, bringt sie in 50%igen und allmählich in stärkeren Alkohol. Burkhardt fixirt Rückenmark von Triton 24 Stunden in 5%iger Essigsäure. Schneider fixirt Eier von Strongylocentrotus lividus ausser in Carnoy (s. Alkohol) auch in Eisessig.

Auch die Essigsäuredämpfe sind ebenfalls schon zur Fixation und Isolation benutzt worden, aber nur im Gemisch mit anderen Substanzen.

Die Resultate der Essigsäurefixation zeigen denn auch ihre Unbrauchbarkeit, die Wasielewski für das botanische Objekt ebenfalls festgestellt

hat, in den gröbsten Verunstaltungen der Kerne, wie des Zellkörpers und der schlechten Färbbarkeit der Präparate.

Die Hauptbedeutung der Essigsäure auf fixationstechnischem Gebiet liegt in ihrer Verwerthung im Gemisch mit anderen fixirenden Agentien. FISCHER hat diese Rolle als Ansäurer kennen gelehrt; sie ermöglicht gewissen Fixirungsmitteln, wie der Osmiumsäure und dem Kaliumbichromat überhaupt erst ihre Fällungskraft gegenüber den alkalischen Zelleninhalten zu bethätigen, und erleichtert dies anderen, wie dem Platinchlorid und der Chromsäure, die durch alkalische Reaktion in ihrer Wirkung gehemmt werden. Recht klar wird diese Bedeutung durch den Vergleich der mit ALTMANN's neutralem Bichromatosmiumgemisch fixirten Kerne mit solchen, die mit dem angesäuerten Gemisch fixirt wurden. Zweitens aber dient die Essigsäure in stärkeren Koncentrationen auch wirklich zur Fällung der Nukleïnsäure (FISCHER) und des Nukleïns.

Damit stimmt dio Angabe von v. WASIELEWSKI über die gute Erhaltung der Mitosen trotz der im übrigen schlechten Konservirung gut überein. Das gleiche Resultat erzielt BURCHARDT. Die Fällung der Kornsubstanzen wird dadurch komplicirt, dass Nukleïn nach KULTSCHITZKY zwar gefällt, durch starke Essigsäure aber und auch durch schwache bei langdauernder Wirkung wieder gelöst wird; diese Erscheinungen treten auch am Kern auf. FISCHER hat aus der Litteratur die Beispielo gesammelt, in denen zuerst durch die Essigsäure feinkörnige Gerinnungen auftraten, die später verschwanden, und deutet diese nun dahin, dass diese Kerngerüste also nicht aus Nukleïn oder Nukleïnsäure beständen. Die Fällungen durch Essigsäure verschwinden nach FISCHER sowohl durch den Ueberschuss des Mittels als durch Neutralisation; von der Stärke der Alkalescenz einer Eiweisslösung hängt es ab, welche Säurekoncentration eine dauernde, welche eine verschwindende Fällung hervorrufe. — Drittens ist für ihre Brauchbarkeit in Gemischen die quollende Wirkung wichtig, die bei der Ueberwiudung der schrumpfenden Eigenschaften vieler sonst guter Fixirmittel sich nützlich erweist.

Für die Analyse der Gewebe am frischen Objekt ist die Essigsäure ein geradezu unentbehrliches Hilfsmittel geworden. Hierbei tritt ihre Wirkungsweise am klarsten zutage. Die Essigsäure, hier meist in verdünnter bis 2%iger Lösung benutzt, bewirkt eine Quellung einzelner Zell- und Gewebetheile: diese werden durchsichtiger und es treten infolge dessen die nicht gequollenen Substanzen klarer hervor. Bei Essigsäurezusatz quillt der Zellenleib; schon dadurch, ganz abgesehen von etwaigen Fällungen, werden die Zellkerne besser sichtbar, ferner quellen die Bindegewebefibrillen, nicht aber die elastischen Fasern. Dies ist die einfachste Methode für deren Nachweis im frischen Präparate. Unberührt bleiben ferner Fettkörnchen, während andere aus Albuminen, Globulinen und Nukleoalbuminen bestehende »Eiweisskörnchen« im Ueberschuss sich lösen; hierauf beruht die optische Trennung von albuminös getrübten und fettig metamorphosirten Zellen, z. B. in der Niere.

Auch zur Fixirung frischer, nicht zur Aufbewahrung bestimmter Präparate von einzelnen Gewebezellen oder Protozoen, aber auch von Geweben benutzt man praktisch ein Essigsäurefarbgemisch, vor allem Methylgrün-Essigsäure (s. Methylgrün).

Die Durchsichtigkeit, die einzelne Gewebetheile, z. B. die Sehnenfasern, das lockere Bindegewebe bei der Essigsäurebehandlung gewinnen, kann auch für Dauerpräparate durch nachfolgende Färbung oder Metallimprägnation der übrigen Gewebebestandtheile nutzbar gemacht werden, wie dies vielfach bei den Goldmethoden, aber auch bei anderen Färbungen geschieht, z. B. von KÖLLIKER für die Darstellung der SHARPEY'schen Fasern angegeben wurde (Behandlung mit koncentrirter Essigsäure bis zur Durchsichtigkeit, ½—1 Minute koncentrirtes Indigokarmin, Wasser-, Glycerin- oder Balsameinschluss. Fasern roth, Grundsubstanz blau).

Die Lockerung der Stützsubstanzen bei langdauernder Einwirkung macht endlich die Essigsäure zu einem unserer besten Isolationsmittel (s. Maceration).

Litteratur: van Beneden und Neyt (Bull. Ac. Roy. Sc. Bruxelles [3], Bd. 14), Burkhardt (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), Schneider (Arb. zool. Inst. Wien, Bd. 9, 1891), v. Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Fischer (Protoplasma, pag. 10ff.), Burchardt (Cellule, Bd. 12, 1892), Kultschitzky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), Kölliker (Zeit. wiss. Zool., Bd. 44, 1886).

Poll, Berlin.

Etikettiren. Jedes mikroskopische Präparat sollte sofort nach seiner Fertigstellung etikettirt werden, und zwar soll auf der Etikette bemerkt werden Art und Herkunft des Objekts, Angabe der Fixation, der Färbung und Tag der Fertigstellung. Bei Objektträgern von englischem Format kann man zur Etikettirung die beiden Enden benutzen, bei kleineren Formaten muss man sich mit einem Ende behelfen. Die Daten werden zumeist auf Papier- oder noch besser Kartonetiketten von passender Grösse geschrieben. Die letzteren haben den Vortheil, dass man, ohne ein Zerdrücken des Deckglases befürchten zu müssen, die Objektträger aufeinanderschichten kann. Die mit gewöhnlichem Gummi aufgeklebten Etiketten springen häufig sehr bald wieder ab. Um ein sicheres Kleben herbeizuführen, soll man nach Fol zunächst den Objektträger mit einer Lösung von Chromalaungelatine in Essigsäure bestreichen und auf diese Unterlage erst aufkleben. Ein vorzügliches Klebemittel erhält man durch Lösung von 120 Grm. Gummi arab. in wenig Wasser, ebenso 30 Grm. Traganth, man mische beides und filtrire durch feine Leinwand. Dann setzt man 150 Grm. Glycerin zu, in dem 2,5 Grm. Thymianöl gelöst sind und verdünnt mit Wasser auf 1000. Das Klebemittel muss in gut verschlossenen Flaschen aufgehoben werden.

Zum vorläufigen Bezeichnen von Präparaten kann man sich entweder eines Fettstiftes oder eines Schreibdiamanten oder schliesslich gewöhnlicher Tinte oder Tusche bedienen. Will man die letztere unabwischbar machen, so setzt man ihr nach dem Vorschlag von Schöbel Wasserglas zu. Natürlich kann man auch an Stelle der Tusche eine beliebige Farbe nehmen, z. B. Kremserweiss.

Eugenol, ein Allylderivat, $C_6\,H_3 \begin{cases} O\,H \\ O\,CH_3 \\ C_3\,H_5 \end{cases}$, der wirksamste Bestandtheil des Nelkenöls, eine aromatisch riechende Flüssigkeit. Sie wurde mit Aether zusammen von Stepanow zur Lösung von Celloidin empfohlen. Seine Normallösung besteht aus feinsten Celloidinspähnen 1,5 Grm., Eugenol 5 Ccm., Aether 20 Ccm. Man setzt derselben absoluten Alkohol tropfenweise zu (aber höchstens 1 Ccm.) bis zur Lösung des Celloidins.

Eukalyptusöl wird durch Destillation aus den Blättern von Eucalyptus globulus gewonnen. Blassgelbes, aromatisch riechendes Oel, das leicht verharzt. Mischt sich mit 90%igem Alkohol ohne Trübung und besteht hauptsächlich aus Cineol, $C_{10}\,H_{18}\,O$, und geringen Mengen von Pinen und Eukalypten.

Von Fol ist das Eukalyptusöl als Lösungsmittel für Kanadabalsam empfohlen worden.

Experimentell-embryologische Methoden. Die Darstellung umfasst ausschliesslich die der Entwicklungsphysiologie eigenthümlichen experimentellen Methoden, nicht die der gesammten experimentellen Morphologie. Es sind also auch die Methoden der Regeneration ausgeschlossen (z. B. Linsenregeneration nach Colucci und Wolff). Nicht berücksichtigt sind ferner: Die Beobachtungs- und Konservirungstechnik des embryologischen Materiales, die Methoden der künstlichen Befruchtung (inklusive Bastardirung), die Laichzeiten der Thiere und die Wege zur Materialbeschaffung, sowie schliesslich alle diejenigen experimentellen Methoden,

welche der Physiologie und physiologischen Chemie angehören und auch auf die Entwicklungsphysiologie anwendbar sind.

Leider bin ich gezwungen, an vielen Stellen mehr eine einfache Aufzählung der Methoden als eine eingehende Darstellung zu geben, da viele Autoren über ihre Versuchsanordnungen nur sehr dürftige Mittheilungen gemacht haben. Zugegeben, dass eine Zurückhaltung technischer Einzelheiten zuweilen im Interesse des Autors gerechtfertigt erscheint, so ist doch im allgemeinen der Wunsch nach detaillirteren Angaben berechtigt und diese für eine gedeihliche Entwicklung der Methodik der Entwicklungsphysiologie unerlässlich.

Inhaltsübersicht:

A. Methoden zum Studium der prospektiven Potenz von Theilen des Eies oder des Embryos.

Die prospektive Potenz eines Eitheiles wird bestimmt, indem man entweder den betreffenden Theil vom Ganzen trennt und seine Entwicklung in isolirtem Zustande verfolgt, oder indem man ihn abtödtet und die Entwicklung des Ganzen ohne seine Betheiligung beobachtet. Im Einzelfalle werden in der Regel beide Methoden nothwendig sein.

I. Isolirung von Eitheilen.

a) Schüttelmethode.

Zuerst von O. u. R. Hertwig [43]) angewandt, um Bruchstücke der Eier von Echinodermen zu erhalten.

Die Eier werden auf dem gewünschten Stadium in einem mit Wasser bis zu einem Drittel oder höchstens bis zur Hälfte gefüllten kleinen Reagensglase geschüttelt. Driesch [13]) verwendet Röhrchen von 4 Cm. Länge und 0,6 Cm. Durchmesser. Morgan [67]) schüttelt zuweilen mit Deckglassplittern. Für das verschiedene Material ist Folgendes zu beachten:

1. Seeigel. Die Eier werden vorher membranlos gemacht. Dies geschieht nach Driesch [17]) durch Schütteln der Eier kurze Zeit nach der Befruchtung, wenn die Membran deutlich abgehoben ist. Dies ist etwa 3 Minuten nach der Befruchtung der Fall. — Die membranlosen Eier werden 4—5 Sekunden mittelstark geschüttelt. Sphaerechinus granularis. Echinus micro-tuberculatus.

Nicht membranlos gemachte Eier müssen nach DRIESCH[13]) mindestens 5 Minuten lang, nach FIEDLER[27]) 5—10 Minuten stark geschüttelt werden, werden also dementsprechend stärker geschädigt.

Zur Gewinnung von Bruchtheilen der Blastula und Gastrula ist nach MORGAN[69]) starkes Schütteln nothwendig. Eventuell Schütteln mit Glassplittern. Echinus. Sphaerechinus-Blastulae vertragen die Operation nicht.

Um kernlose Bruchtheile des unbefruchteten Eies zu erhalten, schüttelt BOVERI[9]) die frisch aus dem Weibchen entnommenen Eier, lässt absetzen, giesst die milchig getrübte Flüssigkeit ab, füllt auf und wiederholt dies, bis das überstehende Wasser klar ist. Aus dem Bodensatz werden Tropfen entnommen und mit LEITZ 3 und 7 kernlose Stücke ausgesucht. Diese werden mit einer feinen Pipette auf einen zweiten Objektträger gebracht, kontrolirt und bei Vorhandensein kernhaltiger Stücke weiter übertragen, bis die gewünschten kernlosen Stücke isolirt sind. Die Pipetten können zweckmässig vor der Entleerung in horizontaler Lage unter dem Mikroskop untersucht werden, wodurch oftmaliges Uebertragen erspart werden kann. Die Befruchtung der Stücke wird erst nach zwei Stunden vorgenommen, 1. um sie wieder kugelig werden zu lassen, 2. um sie noch einmal auf Kerne zu untersuchen.

MORGAN[67]) schüttelt zu demselben Zwecke mit kleinen Deckglassplittern. Gegen das Ende der Saison zerbrechen die Eier auch bei einfachem Schütteln ohne Glassplitter leicht. Sphaerechinus. Echinuseier lassen sich leicht durch Schütteln ohne Glassplitter zerstückeln.

Nach der Befruchtung ist es leicht, durch einfaches Schütteln membranlos gemachter Eier gekernte und ungekernte Fragmente zu erhalten. DRIESCH circa 1 Stunde nach Befruchtung $^1/_2$ Minute lang.

2. Ascidien. Nach DRIESCH[18]) genügen 25 Sekunden mittelstarken Schüttelns. Phallusia mammillata. Die feste Hülle platzt nie.

3. Amphioxus. Schütteln nach WILSON[108]) ohne jede Schwierigkeit anwendbar.

4. Ctenophoren. Beroë ovata. Schüttelmethode nach DRIESCH und MORGAN nicht anwendbar.[20])

b) Einer dem Schütteln sehr nahe verwandten Methode bedient sich H. E. CRAMPTON[11]) bei Gasteropoden, speciell bei Ilyanassa obsoleta.

Die Eier liegen zu 30—100 in einer Kapsel. Diese wird geöffnet, indem man sie mit einer feinen Pincette an der einen Seite festhält und an der anderen mit einer feinen Scheere anschneidet. Bei der einen Modifikation des Verfahrens werden nun die Eier nicht vorsichtig, sondern durch sehr energisches Hineintreiben von Wasser mit einer Pipette entleert. Hierbei finden viele Isolationen statt und die gewünschten Bruchstücke werden in dem entleerten Inhalt ausgesucht. Bei der andern Modifikation überträgt man ein oder zwei Eier in ein Uhrschälchen mit Seewasser und erregt durch Spritzen mit einer Pipette lebhafte Strudel, wodurch die Eitheile auseinandergerissen werden. Meistens werden alle Eier vollständig zerstört, jedoch erhält man in einem von etwa 10 Fällen unverletzt isolirte Blastomeren.

Die Methode ist ferner angewendet bei Urosalpinx und Anachis.

c) Zerschneiden mit Messer, Scheere oder Lanzettnadel.

Die Methode gewährt vor der vorigen den Vortheil, dass man von vornherein über die Herkunft der erhaltenen Produkte orientirt ist.

1. Die Blastomeren der Meduseneier isolirt ZOJA[113]) mit einer Lanzette, welche durch Anschleifen einer sehr feinen Stahlnadel auf einem Schleifsteine hergestellt wird. Jedes Ei wird einzeln in einen Tropfen Seewasser auf dem Objektträger bei schwacher Vergrösserung (ZEISS A, 3) zerschnitten. Um $^1/_4$ Blastomeren zu erhalten, wird das Ei schon auf dem Stadium der

zwei ersten Blastomeren in diese zertrennt und jede $^1/_2$ Blastomere wieder, wenn sie sich zur weiteren Theilung anschickt. Clytia flavidula, Liriope mucronata, Geryonia proboscidalis, Mitrocoma Annae, Laodice cruciata. Ausserdem Strongylocentrotus lividus.

Das günstigste Objekt ist Clytia; die Eier haben nach METSCHNIKOFF [60 u. 61]) 0,25—0,27 Mm. Durchmesser, werden (Messina) im März um 9, im April um 8 Uhr morgens abgelegt, später noch früher. Laodice laicht am Abend. Mitrocoma hat etwa halb so grosse, Liriope noch nicht halb so grosse Eier wie Clytia. Die Eier von Geryonia sind 0,33 Mm. (cit. ZOJA).

2. Bei Ctenophoren (Beroë ovata) trennt FISCHEL [28]) die Blastomeren innerhalb der unverletzten Eihülle, indem er »das Ei (oder vielmehr die Eihülle), ohne es jedoch zu drücken, zwischen die Arme einer Pincette fasst und mit einer zweiten feinen Pincette oder einem feinen Messerchen (ähnlich dem bei Augenoperationen benutzten KNAPP'schen Messer) zwischen die Furchungszellen eindringt. Man gewinnt bald genügende Fertigkeit, um ohne sichtliche Beschädigungen minutiöse Isolirungen oder Verlagerungen der Zellen auszuführen und nachher die Eihülle entweder in ihre ursprüngliche Form zurückschnellen oder an bestimmten Stellen als isolirende Falte zwischen die Theilstücke schieben zu können«.

DRIESCH und MORGAN [20]) trennen die Blastomeren durch Zerschneiden mit feinen Scheeren. Das Zerschneiden soll vorgenommen werden, wenn schon die nächstfolgende Theilung beginnt, da die Blastomeren dann einen lockerern Zusammenhang zeigen. Die so isolirten Objekte waren sehr empfindlich, keines lebte über 5 Tage.

3. Um Theile von Echinodermenblastulae oder Gastrulae zu erhalten, züchtet man nach DRIESCH [14]) viele Larven in einem Gefäss, entnimmt einen Tropfen, den man »in ein passendes Gefäss« bringt, und schneidet auf Gerathewohl 200—250mal mit einer feinen Scheere hinein. Echinus, Sphaerechinus, Asterias glacialis.

4. Auf Phallusia ist das Zerschneiden nach DRIESCH [18]) nicht anwendbar, da die aus der Hülle isolirten Blastomeren schon auf früheren Stadien der Entwicklung absterben.

d) Zerschnüren der Eier mittels eines Fadens oder Haares.

Zuerst hat O. HERTWIG [45]) die Methode verwendet, das Ei von Triton auf dem Zweizellenstadium durch Einschnüren in zwei Hälften zu zerlegen. Später wurde das Verfahren von v. EBNER, ENDRES, HERLITZKA und SPEMANN wieder aufgenommen und weiter ausgebildet.

1. Die Methode ist von den auf Amphibieneier anwendbaren die vollkommenste, da sie den beabsichtigten Eingriff sehr genau auszuführen und zu kontroliren gestattet. Sie ist bisher nur auf Triton angewendet, dessen Eier, wenigstens zu Querdurchschnürungen, wegen ihrer länglichen Gestalt besonders geeignet sind.

Die Tritoneier* bilden ausserdem ein sehr widerstandsfähiges Material, sind jedoch nach SPEMANN [103]) zu Anfang der Laichperiode empfindlicher als auf der Höhe der Laichzeit. Die Laichzeit dauert für Würzburg (SPEMANN) von Mitte April bis Ende Juni, nach BORN [7]) für Breslau von April bis Juni. Ebenso liegen die Verhältnisse in Berlin.

Als Material sind geeignet Kokonfäden [O. HERTWIG [45]), v. EBNER [115]), ENDRES [116])] oder Haare. Nach SPEMANN [103]) sind Kinderhaare am besten geeignet, dicke und krause Haare unbrauchbar. HERLITZKA [41]) und [42]) verwendet Frauenhaare, die er in Borsäure desinficirt und zur Entfernung der Borsäure mit destillirtem Wasser abwäscht.

---

* Speciell Triton taeniatus, die Eier von Triton cristatus sind jedoch sehr empfindlich.

Das Tritonei besitzt 3 Hüllen, eine äussere Klebschicht, eine starke elastische, spiralig aufgewickelte Hülle und eine weiche gallertige, zu innerst gelegene. Von diesen wird die Klebschicht vor der Operation vorsichtig entfernt, sie erschwert sowohl die Schnürung wie auch die Beobachtung (v. Ebner).

2. Die Ausführung des Verfahrens gebe ich in erster Linie nach Spemann.[103]) Man legt das Haar in eine doppelte Schlinge und macht die Oeffnung so weit, wie der kleinste Umfang der Gallerthülle, »fasst das eine freie Ende mit einer feinen Pincette und schiebt mit einer andern Pincette das Ei in die Schlinge. Dann schnürt man die Hülle möglichst genau in der Mitte ganz wenig ein und lässt das Ei durch Hin- und Herneigen so lange unter der Ligatur hindurchgleiten, bis z. B. die erste Furchungsebene genau unter der Ligatur liegt, worauf man die letztere anzieht«.

Am leichtesten gelingt die Einschnürung auf dem Blastulastadium, weniger leicht auf dem ersten und zweiten Furchungsstadium, schwierig auf dem Gastrulationsstadium.

In schwierigen Fällen schlägt Spemann vor, das Ei durch die Ligatur in eine Ecke zu drängen, so dass es in die eng anliegende Hülle wie in eine Form gepresst wird. »Diese Form kann man noch dadurch verändern, dass man an bestimmten Stellen durch Anschnitt der äusseren Kapsel mit einem feinen Messer einen Bruchsack erzeugt, in den das Ei oder der Embryo hineintritt.« Oder er durchstach »die Hülle mit einer feinen Nadel oder einem schräg abgeschnittenen feinen Silberdraht der Art, dass das Ei in die Ecke gedrängt und bohnenförmig eingebuchtet wurde. Auf diese Weise eine Morula mit Erfolg median einzuschnüren, gelang mir aber nicht; gegen Schluss der Medullarwülste entwand sich der Keim regelmässig dem Zwang. Ich versuchte deshalb, die Ligatur durch die Hülle zu ziehen. Als Nadel diente eine Kapillare, so fein, dass man gerade noch ein Haar durchstecken konnte. Das Haar wurde durch die kürzeste Axe der Hülle gezogen und um den in die Ecke gedrängten Keim als Ligatur geschlungen. Da das Haar dabei dem zarten Dotterhäutchen direkt aufliegt, so schneidet es leicht in das Ei ein. Die beste Methode, die Einwirkung der Schnürung in den späteren Stadien zu studiren, scheint mir immer noch die zu sein, dass man das Ei im Zweizellen- oder Blastulastadium möglichst wenig einschnürt und dann die Ligatur in dem gewünschten Stadium schärfer anzieht.« Ganz leichte Schnürung ist ohne jeden Einfluss auf das Endprodukt. »Um die Ligatur wieder zu lösen, schneidet man ihre freien Enden kurz ab. Namentlich wenn das Ei vorher gehärtet worden ist, muss jeder Druck vermieden werden. Deshalb ist es wichtig, dünne Haare zum Schnüren und eine Scheere mit dünnen Blättern zum Schneiden zu verwenden.«

»Nach der gelungenen Schnürung liegt die Ligatur so fest, dass bei Druck auf die eine Hälfte der Hülle nicht etwa Flüssigkeit aus der einen in die andere getrieben wird, sondern das Ei. Ist das Ei aber nicht in der Mitte geschnürt worden und zieht man die Ligatur stärker an, so wird das Ei in die durch das Anziehen verhältnissmässig weniger gespannte grössere Hälfte gedrängt.« Die Hülle muss also möglichst in der Mitte gefasst werden.

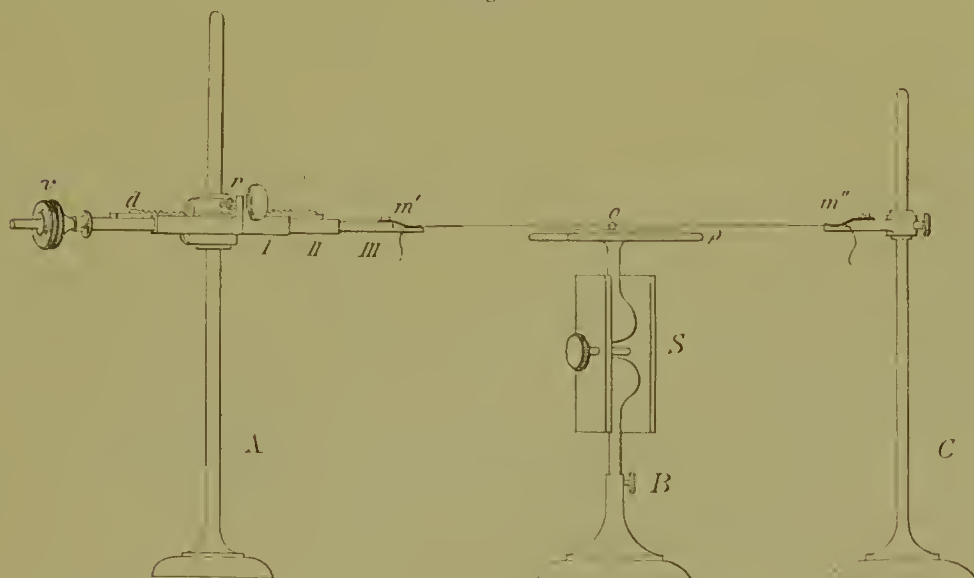
3. A. Herlitzka[41 u. 42]) hat zu dem vorliegenden Zweck einen besonderen Apparat (Fig. 9) konstruirt. Dieser besteht aus zwei Theilen, einem Stativ mit einer einfachen Klammer *C* zum Halten des einen Fadenendes und einem zweiten Stativ mit einer Klammer *A*, welche in eine rasche und eine feine Bewegung versetzt werden kann. Die rasche wird durch die Schraube *r*, die langsame durch die Mikrometerschraube *v* vermittelt. Das Ei liegt in der Höhlung eines ausgeschliffenen Objektträgers auf einem Tischchen *B* zwischen beiden Stativen. Das erste Anziehen des Fadens, beziehungsweise Haares wird durch eine rasche Bewegung mit der grossen Schraube *r* ausgeführt, das langsame Durchschnüren mit der Mikrometerschraube *v*.

4. MORGAN[64]) hat die Zerschnürung bei Funduluseiern ausgeführt. Sie werden mit einem Seidenfaden im Zweizellenstadium oder später umschnürt, so dass das Ei eine hantelförmige Gestalt bekommt.

e) Chemische und physikalische Methoden.

α) Methode von J. LÖB.[57 u. 58]) Ist bisher nur auf Echinodermen (Arbacia) angewendet. Die befruchteten Eier kommen 10—20 Minuten nach der Befruchtung in verdünntes Seewasser. Die für Arbaciaeier genügende Verdünnung wird durch Zusatz des gleichen Volumens destillirten Wassers erreicht. Infolge der osmotischen Druckdifferenz dringt Wasser in das Innere der Membran, diese platzt und ein Theil des Eies tritt heraus. Das Extraovat kann sich ganz ablösen oder mit dem Ei in Zusammenhang bleiben. Das Platzen der Membran kann auch an mehreren Stellen erfolgen und mehrere Extraovate entstehen. Die Eier bleiben zwei Stunden in dem verdünnten Seewasser und werden dann zur weiteren Entwicklung in unverdünntes zurückgebracht.

Fig. 9.



Methodisch ist zu bemerken, dass das Verfahren eine sichere Beherrschung des Endeffektes nicht ermöglicht.

β) Methode von HERBST.[39]) Sie beruht darauf, dass in kalkfreiem Seewasser der Zusammenhang der Blastomeren aufgehoben wird und die Zellen auseinander weichen. Bleibt die Hülle erhalten, so fügen sich die Blastomeren nach dem Uebertragen in normales Seewasser wieder zusammen. Um sie dauernd zu isoliren, müssen sie daher in membranlosem Zustande in die kalkfreie Mischung kommen.

Die kalkfreie Mischung wird bereitet durch Herstellung einer wässerigen »Mischung, welche 3% Chlornatrium, 0,08% Chlorkalium, 0,66% Lithionphosphat, schwefelsaure Magnesia und etwas Eisen« enthält. Dazu kommt ein Zusatz von etwas Magnesiumphosphat. Nur in Kulturen mit diesem letzten Zusatz bildeten sich bei Seeigeleiern wimpernde Zellen, in den Kulturen ohne phosphorsaure Magnesia nicht. Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Mischungen konnte jedoch nicht konstatirt werden. Zur Herstellung der Lösung muss pag. 290—291 nachgesehen werden.

Das Verfahren gestaltet sich daher so (DRIESCH[23]):

1. Die befruchteten Seeigeleier werden durch Schütteln ihrer Membran beraubt (siehe pag. 268).

2. Sie kommen in die kalkfreie Mischung.

3. Auf dem durch den Versuchszweck zu bestimmenden Stadium werden die isolirten Blastomeren herauspipettirt und zur weiteren Entwicklung in normales Seewasser übertragen.

Für die einzelnen Furchungsstadien ist nach DRIESCH[23]) Folgendes zu beachten:

Will man die $^1/_8$-Blastomeren isolirt verfolgen, »so genügt es nicht (DRIESCH), die Objekte herauszunehmen, wenn die 8 Zellen eben deutlich vorhanden sind: in diesem Falle würden die mit der Pipette herausgefischten Keime in vier Pakete zu je zwei Zellen zerfallen; die kalkfreie Mischung muss vielmehr erst auf die Achterzellen als solche genügend eingewirkt haben, dann wird Herauspipettirung der Keime diese prompt in ihre acht Konstituenten zerfallen lassen. Ja man kann sogar ruhig die Versuchsobjekte in der kalkfreien Mischung belassen, bis die sechszehner Theilung einzutreten beginnt, und für eine Sonderung der achter Zellen in »animale« und »vegetative« ist dies sogar der einzig gebotene Weg.« Man erhält acht Pakete zu je zwei Zellen und hat »dabei den Vortheil . . ., jedem Paket an der Art seiner Konstituenten (ob Makro- und Mikromere oder ob Zweizellenwesen) ansehen zu können, ob es ein animales oder ein vegetatives Achtel repräsentirt«.

»Die Aufzucht der $^1/_2$- und $^1/_4$-Blastomeren gelingt sehr leicht; diejenige der $^1/_8$- und $^1/_{16}$-Zellen in Sonderversuchen recht schwer . . . Die einzelnen Blastomeren werden offenbar durch das unvermeidliche Pipettiren bei der Isolirung stark geschädigt und scheinen auch bezüglich ihrer oberflächlichen Schicht und bezüglich eines Schädigungen fernhaltenden Vermögens derselben geschwächt zu sein . . .« Bedeutend bessere Resultate erlangt man, »wenn das Wasser, indem sich die der kalkfreien Mischung entnommenen Objekte weiter entwickeln sollten, bis auf 70° C. erhitzt und dann wieder abgekühlt war«.

Von HERBST und DRIESCH angewendet bei Sphaerechinus ganularis und Echinus microtuberculatus. Die Auflockerung ist bei Echinus radikaler. Von MORGAN[74]) bei Toxopneustes variegatus angewendet. Wie Vorversuche von HERBST an Ascidien und an Myzostoma zeigen, ist die Methode wahrscheinlich sehr weiter Ausdehnung fähig.

γ) Anwendung der Wärme. Nach Angaben von DRIESCH[16]) sind unter den bei 26—31° C. gehaltenen Seeigeleiern Zwillinge häufig, Vierlinge sehr selten und Mehrlinge wurden nicht beobachtet. Eine eigentliche Methode kann die Anwendung der Wärme für die Isolirung von Eizellen wohl nicht abgeben. Ueber Beobachtung des Einflusses der Wärme vergleiche im übrigen pag. 289.

δ) Anwendung der Wirkung der Schwerkraft nach O. SCHULTZE.[100 u. 101]) Werden Eier von Amphibien immobilisirt und auf dem Zweizellenstadium umgekehrt (um 180°), so tritt in einer Anzahl von Fällen Zwillingsbildung auf. Das Verfahren zur Immobilisirung siehe unter *E*.

Angewendet an Rana fusca (O. SCHULTZE[101]), G. WETZEL[105]), Triton taeniatus (W. TONKOFF[104]). Aeusserlich bleiben die Blastomeren bei diesem Verfahren verbunden, es tritt nur getrennte Entwicklung ein.

II. Eliminiren bestimmter Elemente durch Abtödten.

a) Die Anstichmethode ROUX's

wird für Rana esculenta und zur Abtödtung einer der beiden ersten Blastomeren nach seiner eingehenden späteren Vorschrift[91]) folgendermassen ausgeführt.*

* Die frühere Vorschrift siehe Litteraturverzeichniss.[90])

Die Gallerte des Eies darf nur mässig gequollen sein, so dass die Eier sich noch in unvollkommener Zwangslage befinden. Zu diesem Zwecke bleiben sie nach der Besamung noch etwa 20—30 Minuten in Wasser, um dann nach Abgiessen des Wassers an der Luft unbedeckt aufbewahrt zu werden.

Zum Anstechen dient »eine etwas dicke, mikroskopische Präparirnadel«. Diese trägt eine von ihr in der Axe durchbohrte etwa 7 Mm. dicke Messingkugel so, dass die Spitze in einer Länge von etwa 12 Mm. frei bleibt. Spitze und Kugel werden in einer Spiritusflamme erhitzt, die Gallerthülle des Eies mit einer Pincette derb fixirt und mit der Nadel in die eine Blastomere parallel der ersten Furche eingestochen. Die Nadel bleibt einige Sekunden im Ei. Sie muss in die schwarze Hälfte der Blastomere eingeführt werden, da diese die Hauptmasse des Bildungsdotters enthält.

Es werden immer drei Eier so behandelt, bevor die Nadel zum weiteren Male erhitzt wird. Auf diese Weise kommen stets verschiedene Hitzgrade zur Wirkung.

Nur bei denjenigen Eiern darf die Abtödtung der angestochenen Blastomere als gelungen betrachtet werden, welche bis zum Ende der Blastula nur zur Hälfte gefurcht sind.

Im wesentlichen in dieser Form ist die Methode ferner angewendet worden für Rana fusca von O. Hertwig [45]), H. Endres [25]), E. Walter [25]); für Rana esculenta von T. H. Morgan [66]), H. Endres [26]); für Rana fusca, Triton taeniatus und Axolotl von Barfurth.[2])

Barfurth verwendet statt der Nadel oder Lanzette ein besonderes, von ihm angegebenes keilförmiges Messerchen von V-förmigem Querschnitt. Er verwendet ferner für Rana fusca nicht den oben von Roux angegebenen Quellungsgrad der Eihülle, sondern Pflüger'sche Zwangslage. Die Eier des Axolotl bringt er von den Wasserpflanzen auf Fliesspapier, bis sie auf diesem so viel Flüssigkeit verloren haben, dass sie sich fast in Zwangslage befinden. Er fasst die Eier sowohl von Siredon wie von Triton zwischen Daumen und Zeigefinger und operirt sie unter einer Lupe.

Die Anstichmethode auf Teleostier hat Morgan [64]) angewendet. Sein Experimentirobjekt ist Fundulus:

a) Zur Entfernung eines der beiden ersten Blastomeren stösst man durch die Eihaut in die eine Furchungshälfte. Beim Herausziehen tritt ein Theil des Dotters durch die Eihaut heraus und durch vorsichtiges Drücken mit der Nadel lässt sich in vielen Fällen alles Plasma der einen Zelle entfernen.

b) Entfernung eines Theiles des Dotters. Es wird wie im vorigen Versuch, aber in die untere Eihälfte gestochen und durch Zusammendrücken des Eies mit zwei Nadeln ein grosser Theil des Dotters herausgedrückt. Bis zu zwei Drittel des Dotters lässt sich entfernen, ohne die Entwicklung eines normalen Embryos zu verhindern. Das Ei kollabirt zuerst, dehnt sich aber infolge von Wassereintritt wieder aus.

Ferner hat Kopsch an Salmoniden auf dem Gastrulastadium Anstichversuche gemacht, deren Methodik aber nicht näher angegeben ist.

Die Anstichmethode auf Schildkröteneier hat Mitsukuri [62]) angewendet. Seine Experimentirobjekte sind Clemmys und Trionyx.

Die Eier müssen frisch gelegt sein. Da kurze Zeit nach ihrer Ablage das Weisse oberhalb des Blastoderms verschwindet, so haftet alsdann das Blastoderm der inneren Oberfläche der Schale an, und Entfernung dieser ohne Verletzung des Blastoderms ist unmöglich.

Das Ei wird mit einem in Karbolsäure getauchten Tuch abgewischt. Mit einer sterilisirten Scheere wird ein Stück aus dem oberen Pole der Schale herausgeschnitten und daneben auf ein sterilisirtes Papier gelegt.

Die Verletzungen an dem Blastoderm werden mit einem zu einer feinen Spitze ausgezogenen Glasstab ausgeführt. Ein sichtbares Extraovat bildete sich nicht infolge der Operationen. Einige Eier, in welchen die Schale nicht wieder verschlossen wurde, entwickelten sich doch bis zur Bildung von zwei Somiten. In allen übrigen Fällen wurde das Schalenstück wieder eingefügt und zuweilen noch mit einem Stück Seidenpflaster (surgeon silk-plaster) befestigt. Von 120 operirten Eiern entwickelten sich 30 Embryonen.

Die Eier werden auf besondere Weise in feuchter Erde aufbewahrt, worüber das Nähere im Original nachzusehen ist.

Abtödtung einzelner Blastomeren bei Wirbellosen mit der kalten Nadel hat Zoja ausgeführt an Cione intestinalis, Clavellina (sp.?) und Sagitta (sp.?) Bei Ascaris megalocephala ist der Versuch zwar ausführbar, endigt aber stets mit dem frühzeitigen Absterben der unverletzten Blastomere (Zoja [113]).

Ferner Fiedler [27]) bei Seeigeleiern. (Benutzt Glimmerobjektträger als Unterlage beim Schneiden.)

c) Einen Schiessapparat zum Abtödten von Eitheilen mit feinen Glasnadeln hat Chabry [10]) konstruirt. Die Chabry'sche Methode gestattet, den abzutödtenden Eitheil sicherer zu erreichen und den Grad der Zerstörung genauer zu bemessen, als dies mit der ursprünglichen Methode Roux's der Fall ist, und ist dieser dadurch überlegen. Der Apparat ist zunächst nur auf kleine Eier, etwa von der Grössenordnung der Seeigeleier, berechnet. Versuche, ihn auf Eier von der Grösse der Amphibieneier anzuwenden, sind mir nicht bekannt.

Ich beschreibe ausführlich nur die von Kopsch [54]) angegebene Modifikation des Apparates. Angabe der Unterschiede siehe unten.

(Der Apparat wird von Herrn Mechaniker R. Magen, Berlin N. W., Scharnhorststrasse, zum Preise von Mk. 75.— geliefert.)

Die wesentlichen Theile des Apparates (Fig. 10) sind:

1. Eine Glaskapillare, welche einen langen und einen rechtwinklig dazu gebogenen kurzen Schenkel hat. Die Kapillare ist in gebrauchsfertigem Zustande ganz mit Wasser gefüllt und am kurzen Schenkel mit Klebwachs verschlossen. In einiger Entfernung vom offenen Ende des langen Schenkels befindet sich das zu operirende Ei. Die Kapillare wird von einer Feder festgehalten, ihr kurzer Schenkel ruht lose zwischen den Hebeln *B* und *T* der unten zu beschreibenden Drehvorrichtung.

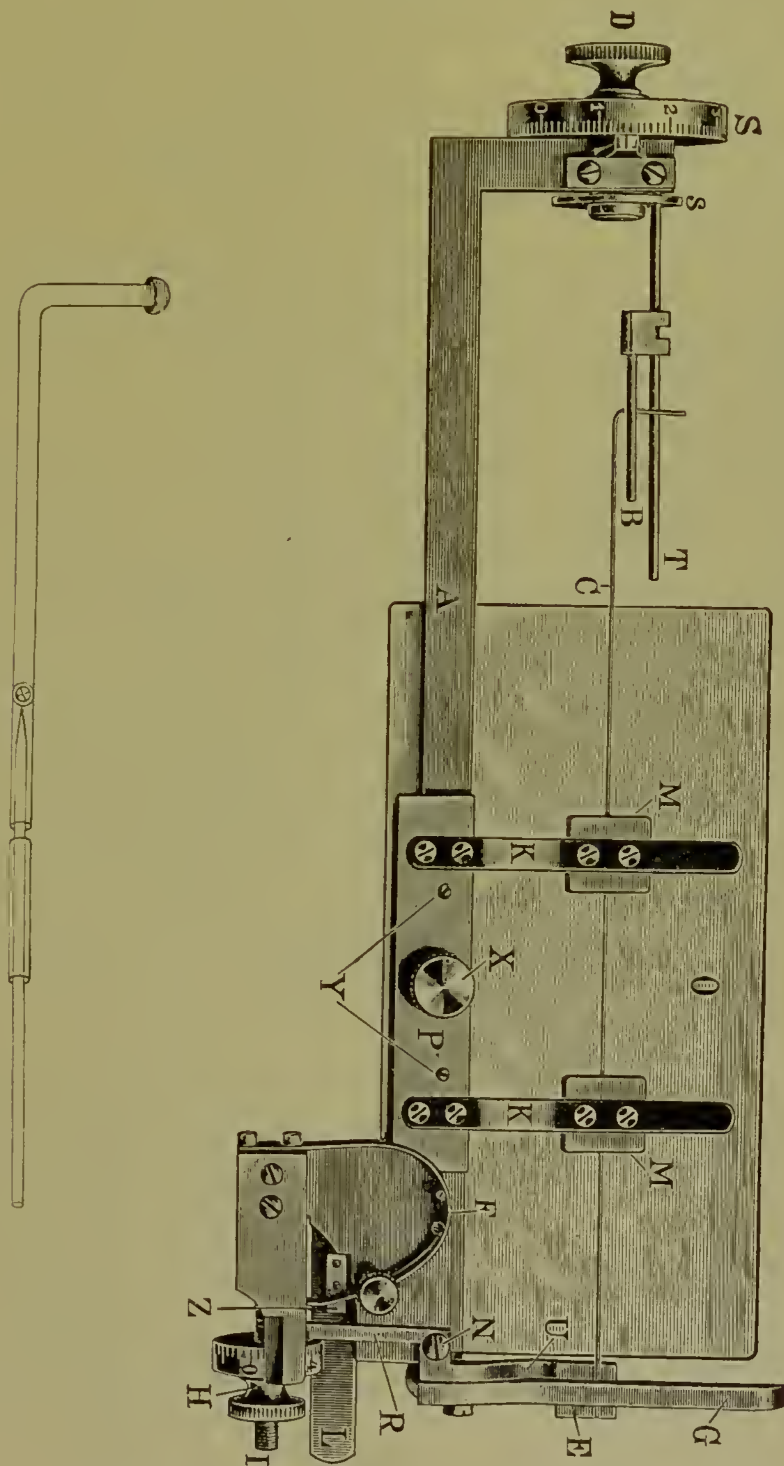
2. Eine Glasnadel mit feiner Spitze. Die Axe der Nadel fällt mit der der Kapillare zusammen. Die Nadel bewegt sich gleitend in einer kurzen mit Seewasser gefüllten Kapillare, die von einer gleichen Klemme wie die grosse Kapillare festgehalten wird. Die Nadel wird an ihrem stumpfen Ende nahe dem einen Ende des gleichnamigen Hebels *U* befestigt. Der Arm *G* drückt sie gegen diesen mittels einer auf der Figur nicht sichtbaren Feder.

Kapillare und Nadel ruhen auf einer starken Glasplatte. An deren einer Längsseite ist eine starke Metallschiene befestigt, welche den beiden die grosse und die kurze Kapillare an die Glasplatte drückenden Federn *KK*, sowie der Drehvorrichtung links und dem Schiessapparat rechts als Träger dient.

D i e D r e h v o r r i c h t u n g dient dazu, mit der Kapillare das in ihr enthaltene Ei so zu drehen, dass die abzutödtende Blastomere vor die Spitze der Nadel zu liegen kommt. Die Nadel ist nicht drehbar. Die Drehvorrichtung befindet sich an dem kurzen Arm der Messingschiene *A*. Ihre Axe fällt mit der Hauptaxe des Apparates, d. h. der Axe von Kapillare und Nadel zusammen. Sie trägt eine grössere Scheibe *S* und eine kleinere *s*. An der kleineren ist excentrisch der Stab *T* befestigt, welcher einen kürzeren Parallelstab *B* trägt, der mittels eines Querstücks an ihm entlang verschiebbar ist. Zwischen beiden Stäben ruht der kurze Schenkel der Kapillare. Er muss

daher der Drehung der Scheibe in beiderlei Sinne folgen. Die Verschieblichkeit des kurzen Stabes macht Kapillaren von 5—10 Cm. verwendbar. Der Umfang der grossen Scheibe S ist in 100 gleiche Theile getheilt. (Jeder Theil = 3,6°.)

Fig. 10.



Die Schiessvorrichtung weist einen gleicharmigen Metallhebel auf, welcher um die senkrechte Axe N drehbar ist. An dem einen Arm ist bei E in schon beschriebener Weise die Nadel befestigt. Der andere kann durch die Feder F vorgeschnellt werden. Die Feder wird in gespanntem Zustande

durch einen Zahn *Z* festgehalten, der sich auf einer starken, nach abwärts drückbaren Zunge *L* befindet. Wird durch Herabdrücken der Zunge die Feder befreit, so treibt sie den Arm *R* nach rechts, also den Arm *U* und damit die Nadel nach links und in das Ei hinein. Das äusserste Ende des Hebels *R* schlägt gegen eine Schraubenmutter, durch deren Stellung die Exkursionsweite des Hebels und damit der Nadelspitze bestimmt wird. Jeder Theilstrich der Schraubenmutter entspricht einer Verschiebung derselben auf ihrer Axe um 5 μ.

Bei entspannter Feder hält diese den Hebelarm *R* dauernd gegen die Schraubenmutter angedrückt. Der Hebel und damit die Nadelspitze folgt dann der Bewegung der Mutter in beiden Richtungen.

Die Excursion des Hebels *U* nach links ist durch die Seitenwand der Glasplatte begrenzt.

Herstellung der Glaskapillaren und Glasnadeln. Zur Herstellung der Kapillaren dürfen keine streifigen Röhren genommen werden. Um ein möglichst gleichmässiges Lumen zu erhalten, nimmt man von einem langen ausgezogenen Kapillarrohr nur den mittleren Theil. Die Eier sollen mit leichter Reibung in der Röhre liegen, danach ist die mit der Grösse der Eier wechselnde Weite der Kapillaren zu bemessen.

Die Kapillaren müssen ebenso wie die durch Ausziehen von Glasstäben herzustellenden Glasnadeln zuerst mit blossem Auge geordnet und dann mit Mikrometer und Mikroskop gemessen werden.

Zur Herstellung feiner Spitzen empfiehlt Kopsch folgendes Verfahren: »Man nehme in eine Hand einen Glasstab und erwärme das eine Ende in einer Bunsenlampe bis zu schwacher Rothglut. Sobald dies erreicht ist, wird das glühende zur Hälfte aus der Flamme genommen, die andere Hälfte bleibt in den Randtheilen der Flamme, um eine zu schnelle Abkühlung zu vermeiden. Dann nähert die andere Hand das eine Ende des Glasfadens dem glühenden Ende, berührt dasselbe und zieht den Glasfaden mit schneller gerader Bewegung wieder zurück. Dadurch entsteht eine Spitze von äusserster Spitzigkeit. Der Charakter der Spitze hängt ab von der Hitze des Glasstabes, der Länge der Berührung und der Schnelligkeit des Abziehens.« Die Spitzen müssen unter dem Mikroskop untersucht und die für den jeweiligen Zweck geeigneten ausgesucht werden.

Zur Aufbewahrung werden die Nadeln mit dem stumpfen Ende in ein Gefäss mit Sand gesteckt, oder in Glaskapillaren oder auf einen paarigen Bock aus Papier gelagert (Kopsch).

Ausführung der Operation.

1. Die Glasnadel »wird mit dem nicht zugespitzten Ende voran in eine mit Seewasser gefüllte Kapillare von 2 Cm. Länge gesteckt, welche nach dem Aufrichten des Armes *G* und Aufheben der rechten Klammer *K* unter die Rille des Stückes *M* der rechten Klammer gelegt wird«. Die Spitze der Glasnadel sieht nach links und soll im Innern der Kapillare vor dem Abbrechen geschützt sein, »während das rechte Ende auf der Platte *E* liegt und dort nach vorsichtigem Herablassen des Armes *G* befestigt wird«.

2. »Mit der Pipette werden einige Eier in den Hohlschliff des Objektträgers gebracht; ein passendes von ihnen wird unter dem Mikroskop ausgesucht. Dann nimmt man die Kapillare zur Hand und taucht den längeren Schenkel in das Wasser, in welchem sich die Eier befinden. Die Flüssigkeit steigt durch Kapillarität auf. Die Schnelligkeit des Aufsteigens kann man durch senkrechte Stellung der Kapillare etwas vermindern, durch schiefe Lage etwas beschleunigen. Sobald die Wassersäule nahezu das Knie der Kapillare erreicht hat, wird die Oeffnung der Kapillare in die Nähe des Eies gebracht, welches durch den Wasserstrom mitgerissen in das Lumen derselben gelangt. Vorbedingung zum guten Gelingen ist, dass die Mündung

der Kapillare glatt abgebrochen ist. Man lässt das Wasser solange eindringen, bis auch der kurze Schenkel der Röhre ganz gefüllt ist. Die Oeffnung desselben wird alsdann mit Klebewachs fest verschlossen. Nun sieht man zu, wie weit entfernt das Ei von der Mündung des langen Schenkels der Kapillare liegt. Die Entfernung darf in maximo 20 Mm. nicht überschreiten. Das Mass ist gegeben durch die Entfernung der Objektklammern von einander. Man wählt aber mit Vortheil eine geringere Entfernung, ungefähr 10 Mm. Sobald also das Ei mehr als 10 Mm. von der Oeffnung des langen Schenkels entfernt ist, bricht man unter Wasser das Zuviel ab. Die Kapillare kann durch das Abbrechen bis auf 5 Cm. verkürzt werden, der Apparat erlaubt seiner Einrichtung nach die Anwendung von 5—10 Cm. langen Kapillaren. Ist die Kapillare nunmehr fertiggestellt, so wird sie genau in derselben Weise wie die Kapillare, welche die Glasnadel enthält, unter die linke Klammer gebracht, wobei hier nur darauf zu achten ist, dass der kurze Schenkel zwischen die beiden Stäbe *T* und *B* gelangt.

Nunmehr wird der Arm *G* wieder gehoben, die Feder *F* entspannt, die mit dem Ei beschickte Kapillare und die mit der Glasnadel versehene Kapillare bis zur Berührung genähert, ein Deckglas auf beide gelegt, unter dasselbe ein Tropfen Seewasser gethan und unter dem Mikroskop die Glasnadel in die mit dem Ei beschickte Kapillare eingeführt. Nun sucht man durch Drehung der Kapillare die Zelle, welche abgetödtet werden soll, vor die Spitze der Nadel zu bekommen. Muss dazu das Ei in einer anderen Richtung gedreht werden, als es durch die Drehvorrichtung geschehen kann, so genügen leichte Stösse der Glasnadel an die Eihülle. (Dass dabei eine Nadel mit etwas excentrischer Spitze bessere Dienste leistet als eine genaue, centrische, dürfte einleuchten.) Sobald die betreffende Blastomere günstig liegt, wird die Spitze der Glasnadel dicht an dieselbe herangeführt, der Arm *G* gesenkt und durch Drehen der Schraube *H* die Nadelspitze der Blastomere noch näher gebracht, wobei die Eihülle von der Nadel vorgeschoben wird. Dann wird die Feder *F* gespannt, die Schraube *H* um eine entsprechende Zahl von Theilstrichen nach derselben Richtung wie vorher bei Annäherung der Nadelspitze an die Blastomere gedreht, der Abzug *L* nach unten gedrückt.

Die Feder *F* schnellt gegen den Hebelarm *R* und drückt ihn fest an die Mutter *H* an, dadurch wird der Hebelarm *U* nach links und damit die Glasnadelspitze vorwärts getrieben und entweder durch die ganze Blastomere durchgestochen oder nur eingestochen. Es kommt auch vor, dass die Nadelspitze nicht weit genug vorschnellt, dann kann man denselben Vorgang noch einmal wiederholen.*

Nach erfolgreicher Operation wird der Arm *G* etwas gehoben, die Glasnadel in ihre Scheide zurückgezogen, die Kapillare, welche das Ei enthält, vom Apparat genommen, der kurze Schenkel abgebrochen und das operirte Ei in ein Glasschälchen geblasen.«

Die ursprüngliche Form des CHABRY'schen Apparates unterscheidet sich von der obigen hauptsächlich dadurch, dass nur die Schiessnadel und die Kapillare sammt Drehvorrichtung an der Glasplatte selbst angebracht ist. Die Feder zum Schiessen, sowie die Hemmungsvorrichtung für die Bewegung des Schiesshebels sind am Stativ des Mikroskops befestigt. Die übrigen Unterschiede sind nicht wesentlich.

b) Abtödtung durch den elektrischen Strom.

1. Der elektrische Strom ist zuerst von O. HERTWIG [45]) zur Abtödtung einer der zwei ersten Blastomeren von Rana fusca verwendet worden.

* Natürlich ist darauf zu achten, dass der Arm *U* nicht an die Glasplatte anschlägt. Giebt man ihm eine mit der Glaskante parallele Lage, so ist genügend Platz.

2. SAMASSA [97]) verwendet bei Rana folgendes Verfahren.

pag. 372: »In den primären Kreis eines Du Bois'schen Schlitteninduktionsapparates wird ein kleines Trockenelement und ein Stromunterbrecher eingeschaltet. Der eine Pol des sekundären Kreises wird an die Wasserleitung angeschlossen, um den Strom zur Erde abzuleiten, der andere Pol mit einer Kupferplatte leitend verbunden, die auf die Rückseite eines Tellers aufgekittet ist. Man nimmt nun eine grössere Portion Laich, in dem die Eier das achtzellige Stadium eben erreicht haben; es ist dies nothwendig, um dem Strom eine möglichst grosse Eintrittsfläche zu gewähren. Hierauf berührt man mit einer Nadel, die in ihrer unteren Hälfte mit Ausnahme der Spitze mit Lack isolirt ist und im nichtisolirten Theil mit der Hand leitend gehalten wird, die Zelle, die man tödten will, und unterbricht einige Male den primären Strom. Ich habe nach verschiedenen Versuchen Rollenabstände von 14—20 Cm. verwendet; ich habe es aber nicht erreichen können, jedesmal mit Sicherheit die gewünschten Zellen zu tödten.« Fast immer wird entweder das ganze Ei getödtet oder einige der zu tödtenden Zellen bleiben lebend.

B. Methoden zur Beobachtung von Gestaltsveränderungen und Materialumordnungen, sowie von topographischen Beziehungen überhaupt.

I. Immobilisirung* lebender Eier.

a) »Plattenzwangslage« (O. SCHULTZE).

Die exakteste Methode zur Immobilisirung ist die Kompression zwischen Glasplatten. Diese Methode ist unter *D* 1 für Amphibien und für Seeigeleier beschrieben.

Die Beschreibung der besonders zum Zweck der Kompression konstruirten Apparate, des Kompressoriums von ZIEGLER etc., siehe im Artikel: Lebendes Objekt. Beobachtung desselben.

b) PFLÜGER'sche Zwangslage.

Für alle Amphibieneier mit quellbarer Gallerthülle, soweit sie künstliche Befruchtung gestatten, ist die PFLÜGER'sche Zwangslage anwendbar. Die Methode ist von PFLÜGER [78—80]) in erster Linie für R. esculenta angegeben.

Das aus dem Uterus entnommene Ei wird trocken auf eine Uhrschale gesetzt und ein nicht zu grosser Tropfen Samen zugesetzt, oder das Ei wird in einige Tropfen schon vorher in das Schälchen gebrachter Samenflüssigkeit gelegt. In beiden Fällen wird die überschüssige Flüssigkeit nach einigen Sekunden abgegossen. Das Ei haftet jetzt mit der Hülle fest am Glase. Diese kann ausserdem nicht weiter quellen und liegt daher dem Ei ringsum mit Reibung an. Hierdurch wird die Fixirung bewirkt.

Zu der Art der Fixirung muss bemerkt werden, dass nach Untersuchungen von BORN [6]) auch bei strengster Fixirung, also geringster Quellung der Hülle nur die äusseren Rindenschichten fixirt bleiben, während im Innern des Eies die Substanzen an der Rindenschicht und unter sich verschieblich bleiben. Wird daher das Ei, dessen schwerere dotterreiche Hälfte normalerweise nach unten gerichtet ist, umgekehrt gelagert, so tritt im Innern ein langsames Zurückfliessen des schweren Dotters ein, verbunden mit einem Aufsteigen des leichteren protoplasmatischen Antheils des Eies. Dieses Fliessen dauert an, bis wieder ein den verschiedenen specifischen Gewichten entsprechender Gleichgewichtszustand erreicht ist.

* Statt Immobilisirung wird auch Fixirung gesagt. Da man mit Fixirung in der biologischen Technik etwas ganz anderes bezeichnet, ziehe ich den ersten Ausdruck vor.

O. SCHULTZE[102]) giebt für die PFLÜGER'sche Zwangslage eine eingehende Anweisung. Diese bezweckt, eine grössere Anzahl Eier gleichzeitig auf möglichst genau demselben Entwicklungsstadium und unter demselben Grade von Zwangslage zu erhalten.

»Man setzt die mit einer trockenen feinen Lanzette oder mit fein zugespitzter Pincette aus dem Uterus genommenen Eier einzeln auf trockene Glasplatten in der gewünschten Lage auf, legt die Platte mit den Eiern auf einen grossen Teller und lässt aus einem Zerstäubungsapparat so lange einen feinen Wasserregen über die Platte gehen, bis nach einigen Sekunden diese mit einer gleichmässigen Wasserschicht bedeckt ist.« Die Platte wird »jetzt in die bereit stehende Schale mit Samenwasser hineingelegt«. Der Grad der Quellung ist verschieden je nach dem Verweilen im Samenwasser. »Um bestimmte Resultate zu erhalten . . . . . kommt es . . . . . auf genaues Einhalten der Zeit nach einzelnen Minuten an. Vor dem Uebertragen in die feuchte Kammer lässt man circa eine Minute lang das Wasser von der auf Fliesspapier auf die Kante gestellten Platte ablaufen. Die Erfahrung lehrt, dass für alle Eier giltige Angaben, die immer zu den gleichen Resultaten führen, auf die Minute genau nicht möglich sind.« Grund dafür sind individuelle Verschiedenheiten.

Zur Fixirung von Forelleneiern verwendet RAUBER[83]) aus Kupferdraht hergestellte und darauf versilberte Klemmen. In ihrer Form entsprachen letztere den »Serres fines der Chirurgen; doch ist ihre Federung eine sehr zarte und ihre beiden Arme laufen in einen passend grossen Ring aus. Beide Ringe, deren Durchmesser etwas kleiner ist als der Eidurchmesser, liegen in parallelen Ebenen und umgreifen federnd das Ei, ähnlich einer kleinen geburtshilflichen Zange. Hat man ein Ei damit gefasst, so kann ihm jede Stellung im Brutwasser gegeben werden.«

II. Anbringung von Marken.

1. Zum Studium von Materialverlagerungen, besonders während der Gastrulation und bis zur Bildung der Medullarwülste bedient sich ROUX[88]) beim Frosch der oben beschriebenen Anstichmethode (pag. 272). Da hierbei sehr ausgedehnte Defekte zu abnormen Umlagerungen führen müssen, so wird man die heisse Nadel nur ganz kurze Zeit im Ei verweilen lassen, oder sich der kalten Nadel bedienen.

2. Bei Hühnerembryonen haben FOL, ASSHETON, KOPSCH, PEEBLES Markirungsoperationen an oder in der Nähe des Primitivstreifens ausgeführt und beschrieben.

FOL[29]) hat zur Ermittlung der Reihenfolge, in der die Urwirbel sich anlegen, nach Ausschneiden eines Stückes der Schale mit Hilfe eines »thermocautère effilé« zu beiden Seiten der ersten Somiten eine Brandmarke angebracht. »L'œuf ayant été refermé avec soin et remis en incubation pendant encore 48 heures, il en résulta un embryon à peu près normal . . . . .«

Für die Methode ASSHETON'S[1]) citire ich die kurze Beschreibung des Autors. »The egg was first of all opened at one side, and a bristle inserted into the yolk at some distance away from the blastoderm, to mark its anterior and posterior axis.

The yolk, with its surrounding albumen, was then turned out into a glass vessel having a rather greater capacity than that of an ordinary egg shell.

The yolk was arranged so that the blastoderm floated uppermost, and a wire or celluloid ring was placed over it to prevent the yolk from floating to the surface.

A fine sable hair was then inserted in the blastoderm, and its position measured by a micrometer eye-piece and recorded in tenths of a milli-

metre. The vessel was filled up with albumen and covered with a glass lid. and placed in the incubator at a temperature of 104° F.«

Die Eier entwickeln sich langsamer als normale, erreichten jedoch nach 48 Stunden ein Stadium entsprechend einem normalen 30—36 Stunden bebrüteten mit 9—10 Somitenpaaren.

Kopsch[52]) operirt am Primitivstreifen »vermittels des elektrischen Stromes an bestimmten Stellen verschieden alter Keimscheiben (12 bis 24 Stunden bei 39° C. Innentemperatur des Brutapparates bebrütet). Zur Vornahme der Operation wurde ein Loch von 10—15 Mm. Durchmesser in die Eischale gemacht, welches nach der Operation vermittels eines Deckglases und eines Wachsringes verschlossen wurde. Die Embryonen entwickelten sich bis zum 3. Tage . . . . . . wie uneröffnete Kontroleier.« Länger wurden sie nicht bebrütet.

Dasselbe Verfahren hat Kopsch[52]) auch bei Scylliumeiern angewendet, jedoch noch keine genaueren Angaben über die Methode gemacht. Ebensowenig haben dies Rückert (Anat. Gesellschaft München 1891) und Katschenko (A. A. III, 1888) gethan.

Peebles[77]) macht die Verletzung mit einer heissen oder kalten Nadel oder führt nach Assheton's Vorgang ein thierisches Haar (sable hair) in das Blastoderm ein, dessen spätere Lage dann beobachtet wird. Zum Verschliessen der Eier wird als beste folgende Methode beschrieben. Ein kleines Schalenstück mit anhaftendem Häutchen, welches ein wenig grösser ist als die Oeffnung, wird auf diese gelegt. Die Ränder dieses Deckels werden mit Streifen noch feuchten Eihäutchens (Membrane) bedeckt. Diese trocknen in einigen Minuten und verschliessen das Ei dicht.

3. Bei Ctenolabrus- und Serranuseiern bringt Morgan[64]) die Marken (speciell zur Bezeichnung der Richtung der ersten Furche) auf der Eihülle an.

Die Eier werden aus dem Wasser genommen und abgetrocknet. Dann wird eine mit fein zertheiltem Karmin bedeckte Nadel horizontal in der gewünschten Richtung über die Eier herübergezogen. Diese kommen dann wieder in das Wasser zurück und diejenigen Eier, an denen genügend Farbentheile haften bleiben, werden ausgesucht.

Die Methode ist nur bei Eiern anwendbar, welche sich gar nicht oder nur bei sehr roher Behandlung in den Hüllen drehen oder verschieben. Die Eier der genannten beiden Teleostierarten sind nach Morgan genügend unverschieblich.

4. Falls die zu beobachtenden Eier auf einer Unterlage aufliegen, lassen sich die embryonalen Richtungen auch auf dieser markiren.

Pflüger[78]) markirte bei Eiern von R. esculenta, welche in Pflüger'scher Zwangslage (s. pag. 278 ff.) gehalten waren, die Richtung der ersten Furche auf dem Uhrglase durch zwei in der Verlängerung der Furchungsebene gezogene Diamantstriche.

Solche Markirungen sind aber nur zulässig, wenn für eine hinreichende Fixirung der Eier gesorgt ist.

Dieses Verfahren leitet dazu über, die Lage der Organe jedesmal auf verschiedenen Stadien durch Zeichnung zu fixiren und dann die Zeichnungen unter einander zu vergleichen. Eine hierhergehörige Methode hat Roux zur Bestimmung der Richtungsbeziehungen zwischen der ersten Furchungsebene und der Medianebene angewendet. Wie aus der Versuchsanordnung unmittelbar hervorgeht und besonders Kopsch[53]) betont, kann die Methode nur sehr ungenaue Resultate geben und soll daher nicht mitgetheilt werden.

III. Verwendung der Photographie.

Die Photographie als Abbildungsverfahren kann hier nicht berücksichtigt werden, sondern nur insofern sie als Forschungsmittel dient.

1. KUPFER[55]) hat die Photographie in diesem Sinne zuerst verwendet. und zwar zur Feststellung des Vorschreitens des Keimhautrandes bei Knochenfischen.

»Ich habe ein Stichlingsei, das unter dem mikrophotographischen Apparat fixirt war, in Intervallen von je einer halben Stunde photographiren lassen und dann an den Bildern das Verhältniss des vorschreitenden Keimhautrandes zu gewissen, in diesen Bildern wiederkehrenden, festen Punkten an der Eihaut verglichen.«

2. Später hat meines Wissens nur KOPSCH[50 u. 53]) die Photographie als Forschungsmittel verwendet. Sie dient ihm zur Feststellung der Richtungsbeziehungen der ersten Furche zur Medianebene des Embryos und gestattet gleichzeitig ein Urtheil über die Materialverschiebungen (»Zellenbewegungen«, KOPSCH) während der Gastrulation. Die während dieses Vorganges gemachten Daueraufnahmen zeigen die Kerne derjenigen Zellen, welche während dessen ihren Ort verändert haben, als Striche, aus deren Länge sich unter Berücksichtigung der Kerngrösse, der Vergrösserung und der Expositionszeit die Geschwindigkeit der Veränderungen feststellen lässt. Objekt ist Rana fusca.

Da die Gastrulation an der Unterseite des Eies stattfindet, so müssen die Aufnahmen von unten gemacht werden.

Die Eier selbst kommen bei der einen Modifikation des Verfahrens[50]) zwischen zwei Glasplatten in Zwangslage. Das Mikroskop, auf dessen Objekttisch das Plattenpaar befestigt ist, wird mit dem Fusse nach oben an einem Galgen angebracht. Darunter schliesst sich der photographische Balg mit der Kassette in der bekannten Weise an.

Nach der späteren Modifikation[53]) wird ohne Plattenkompression gearbeitet. KOPSCH benutzt einen Glasring von 65 Mm. Weite und 25 Mm. Höhe, dessen eine Seite von einer planparallelen Glasplatte als Boden verschlossen ist, während auf die andere eine ebenfalls planparallele Platte als Deckel gelegt wird. Auf die Mitte der Bodenfläche wird von aussen her ein schmaler Streifen schwarzes Papier geklebt, dessen Rand als Definirlinie dient und mitphotographirt wird, um Bewegungen des Eies in einer horizontalen Ebene zu kontroliren. Bewegungen des Eies senkrecht zur Horizontalebene und Drehungen um sich selbst können nicht kontrolirt werden. Ein Ei wird in der Nähe der Definirlinie mit dem weissen Feld nach unten aufgesetzt, der Samen ringsherum gleichmässig zugesetzt, »um ungleichen Quellungen der Gallerthülle vorzubeugen«, und nach 5 Minuten die Schale bis zur doppelten Höhe des Eies mit Wasser angefüllt. Gebildete Luftblasen werden durch Berührung mit der Spitze einer Lanzettnadel entfernt. Das Wasser wird nach $1\frac{1}{2}$ Stunden mit einer Pipette abgesaugt, die Wand der Dose mit befeuchtetem Filtrirpapier bedeckt, der Deckel aufgelegt und der Apparat mit Schraubenzwingen am Objekttisch des ganz wie bei der ersten Modifikation umgekehrt aufgestellten Mikroskopes befestigt.

Zur Orientirung über die nothwendige Expositionszeit lässt sich nach KOPSCH angeben, dass bei Beleuchtung durch eine Sammellinse mit AUERschem Gasglühlicht und bei circa 15facher Vergrösserung eine Expositionszeit von 15—60 Minuten verwendet wurde.

Um die Beziehungen zwischen der Richtung der Furchen und der Medianebene zu erkennen, müssen folgende Bestimmungen an den Photographien ausgeführt werden:

1. Der Mittelpunkt *C* des Eies wird bestimmt.
2. Die senkrechte Entfernung des *C* von der Definirlinie.
3. Die Richtung der ersten Furchungsebene durch Verbindung der beiden seitlichen Einschnitte mit einer Graden.
4. Die Medianebene durch eine Verbindungslinie zwischen der Mitte des Urmunds und der Mitte des Eies.

5. Der Winkel, den die erste Furchungsebene mit der Definirlinie macht.

6. Der Winkel, den die Medianebene mit der Definirlinie macht.

7. Aus 5 und 6 ist der Winkel zwischen Medianebene und erster Furchungsebene ohne weiters zu ersehen.

Entsprechende Messungen müssten zur Feststellung irgend welcher anderen Richtungsbeziehungen gemacht werden.

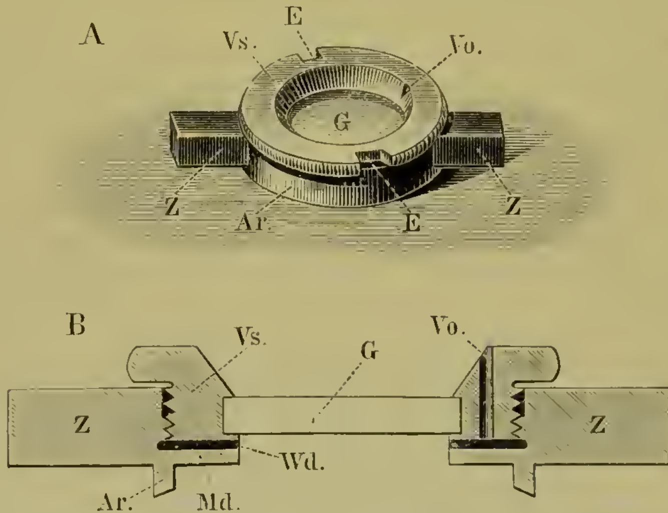
C. Einige besonders für die Entwicklungsphysiologie wichtige Apparate.

I. Chabry's Schiessapparat (siehe pag. 274).

II. Embryoskop von Gerlach.

Gerlach [30]) hat einen als Embryoskop bezeichneten Apparat* beschrieben, welcher eine kontinuirliche Beobachtung des Hühnerembryos während der Bebrütung ermöglicht.

Fig. 11.



»Das Embryoskop besteht aus zwei Theilen: 1. einem an die Eischale festzukittenden Stücke, das ich Aufsatzring *Ar* nennen will, und 2. aus einem in diesen einschraubbaren Verschlussstücke *Vs*.«

»Der Aufsatzring ist eine niedrige, cylindrische Metallhülse, deren Wand eine Dicke von $1^1/_4$ Mm., deren Lumen einen Durchmesser von 2 Cm. besitzt. Der untere Rand ist mit einer sattelförmigen . . . . Schweifung versehen, während der obere Rand eben ist. Von der äusseren Fläche der Hülle gehen, diametral gegenübergestellt, zwei . . . . Metallzapfen *Z* ab. An der Innenfläche ist nicht weit oberhalb des unteren Randes ein Diaphragma *Md* angebracht, dessen rundliche Oeffnung einen Durchmesser von 13 Mm. zeigt.« »Unmittelbar oberhalb des Diaphragma ist in die innere Wand der Metallhülse eine sehr feine, cirkuläre Rinne eingedreht, in welche ein zweites, aus dünnem Wachstuch bestehendes Diaphragma *Wd* mit seinem Rande eingelassen werden kann. Dasselbe stimmt mit dem erstgenannten metallenen Diaphragma in Grösse und Form völlig überein.« »Oberhalb der cirkulären Rinne befinden sich an der inneren Wand der Hülse einige Schraubenwindungen, welche dem Verschlussstücke als Schraubenmutter dienen.«

---

* Der gesammte Apparat (6 Embryoskope mit Nebenapparaten) wird von der Firma Reiniger, Gebbert und Schall in Erlangen für 36 Mark geliefert.

»Das Verschlussstück des Embryoskopes ist ein niedriger Vollcylinder, dessen periphere ringförmige Zone aus einem Metallringe, dessen centraler Theil aus einer runden, ziemlich dicken Glasscheibe *G* besteht.« Der Rand des Verschlussstückes presst sich beim Aufschrauben fest auf das Wachstuchdiaphragma an. Der Metallring verbreitert sich oben zu einem gerieften Rande. »Dieser Rand zeigt zwei diametral gegenübergestellte eckige Einschnitte *E*, in welche die Zinken eines kleinen Schlüssels hineinpassen . . . . Ausserdem besitzt der Metallring des Verschlussstückes einen engen, kurzen, vertikal verlaufenden Bohrkanal *Vo*, der als Ventilöffnung zum Austritt überschüssiger Flüssigkeit dient.

Zu dem Embryoskop gehören folgende Nebenapparate:

1. Ein Trepan, dessen Oeffnung etwas kleiner ist als die des Diaphragmas im Aufsatzringe.

2. Ein Führungsring für den Trepan.

3. Ein Schlüssel in Form eines Reisszeugschlüssels, der in die Einschnitte des Verschlussstückes passt und die Anwendung grösserer Kraft beim Einschrauben desselben gestattet.

4. Eine Metallgabel, mittels welcher sich der Aufsatzring an den beiden an ihm befindlichen Metallzapfen fixiren lässt. Sie gestattet ein bequemes Festhalten des Aufsatzringes und damit des Eies beim Einschrauben des Verschlussstückes.

Zum Aufkitten des Aufsatzringes auf das Ei dient ein Gemisch aus 2 Theilen Wachs und 3 Theilen Kolophonium. Der Kitt wird im Brütofen vorgewärmt und ein aus ihm gekneteter länglicher Wulst in die Furche zwischen der unteren Fläche des Diaphragmas und dem unteren Rande des Aufsatzringes, welcher über einer Spiritusflamme erwärmt ist, eingedrückt.

Der Ring wird nun auf das Ei gesetzt, die überschüssige Kittmasse entfernt und am freien Rande des Diaphragmas wie am unteren Rande des Aufsatzringes nochmals Schellack aufgestrichen. Das Ei wird eröffnet, wenn der Schellack erhärtet ist (6 Stunden im Brütofen, 12—14 in Zimmertemperatur).

Alle bei der Operation nothwendigen Instrumente, sowie ein zweites Ei werden mit Karbolsäure (3%) vorher desinficirt und mit Karbolwatte abgetrocknet.

Das desinficirte zweite Ei wird am spitzen Pol geöffnet und das mehr dickliche Eiweiss in ein Glasschälchen abgegossen. Nachdem dann die Höhlung des Aufsatzringes und der von dem zu operirenden Ei gebildete Boden dieser Höhlung desinficirt und mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült ist, wird mit dem Trepan das Ei eröffnet, das Schalenstück und die Schalenhaut entfernt und die Höhlung des Ringes bis an die obere Oeffnung mit dem aus dem zweiten Ei gewonnenen Eiweiss angefüllt. Sämmtliche Luftblasen müssen beseitigt werden. Dann wird das Wachstuchdiaphragma, welches nach der Desinfektion durch das Eiweiss in dem Schälchen gezogen worden ist, aufgelegt und das Verschlussstück unter Ausschluss von Luftblasen aufgesetzt und aufgeschraubt.

Im Brütofen müssen die Eier immer so liegen, dass das Embryoskop sich seitlich befindet, damit der Luftzutritt zum Embryo nicht behindert ist.

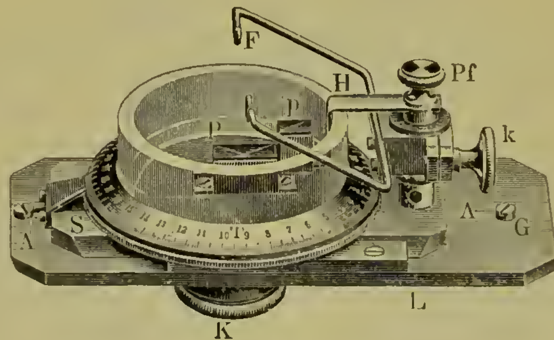
War das Ei, welches mit dem Embryoskop versehen wird, schon im Brütofen gewesen, so müssen sämmtliche mit ihm in Berührung kommenden Flüssigkeiten und Apparate auf einem Wasserbade warm gehalten werden.

Die älteren derartigen Methoden findet man bei Gerlach zusammengestellt.

III. Der Prismenrotator

ist für eine allseitige Beobachtung kleiner opaker Objekte von 0,5—3,0 Mm. Durchmesser bei auffallendem Lichte bestimmt. Die wesentlichen Theile sind ein grosses Reflexionsprisma, dessen beide Kathetenflächen spiegeln und das seine Hypotenuse nach oben kehrt und ein kleines Prisma, dessen Hypotenuse spiegelt und das seine eine Kathete nach oben, seine andere dem Objekt zuwendet. Dieses liegt über der Mitte der einen Kathetenfläche des grossen Prismas und kann hier von oben betrachtet werden. Verschiebt man den Apparat so, dass der Tubus des Mikroskopes über der Mitte der anderen Kathetenfläche steht, so erblickt man infolge doppelter Spiegelung die Unterseite des Objektes. Verschiebt man weiter so, dass der Tubus über der Mitte der Hypotenuse des kleinen Prismas sich befindet, so erblickt man eine Seitenansicht des Objektes. Das grosse Prisma ist mittels des Knopfes *K* drehbar, wodurch man sämmtliche Seitenansichten gewinnen kann, da das Objekt in der Drehungsaxe liegt. Der Theilkreis *T* gestattet den Grad der Drehung zu bestimmen. — Die Prismen befinden sich in einem Glastroge, welcher mit Wasser gefüllt werden kann. — Der Pfeiler *Pf* trägt ausser dem kleinen Prisma die Metallgabel *F*, welche zur Befestigung einer kleinen Glühlampe für Beleuchtung des Objektes bestimmt ist und im Falle des Nichtgebrauches bei Seite geschlagen oder abgenommen werden kann.

Fig. 12.



Was die erhaltenen Bilder betrifft, so ist bei der Seitenansicht (einfache Spiegelung) rechts und links vertauscht. Die Firma Zeiss konstruirt jedoch noch ein zweites Modell mit doppelter Spiegelung, welches diesen Fehler vermeidet. Diese doppelte Spiegelung macht gleichzeitig eine Verschiebung des Apparates in zwei aufeinander senkrechten Richtungen nothwendig, welche durch zwei kreuzweise aufeinander gesetzte Schlitten ermöglicht wird.

»Das Arbeiten mit dem Prismenrotator würde sich also etwa wie folgt gestalten:

1. Fixirung des ganzes Apparates auf dem Objekttisch des Mikroskops durch Einsetzen des flachen, runden Bodenvorsprungs in die centrale Tischöffnung, und zwar so, dass der Prismenträger vom Beobachter aus rechts steht. Dabei steht zunächst der Schlitten so weit rechts wie möglich.

2. Deponirung des Objekts und eventuell Fixirung auf der Hypotenuse des grossen Prismas, und zwar möglichst in der Drehungsaxe des Tellers. Anfüllen des Trogs mit derjenigen Flüssigkeit, in welcher das Objekt untersucht werden soll.

3. Beobachtung des Objekts von oben.

4. Der Schlitten wird so weit nach links verschoben, bis man den Einschlag der (unsichtbaren) Feder merkt. Damit ist die geeignete Stellung zur

5. Beobachtung von unten erreicht. Tubus senken, bis das Bild erscheint. Dann behufs Gewinnung der Seitenansicht des Objekts:

6. *a)* Beim einfachen Apparate Verschiebung des Schlittens so weit nach links als möglich;

6. *b)* beim komplicirteren Apparate Verschiebung des einen Schlittens erst so weit nach links, dann des andern dazu senkrechten so weit auf den Beobachter zu als möglich.«

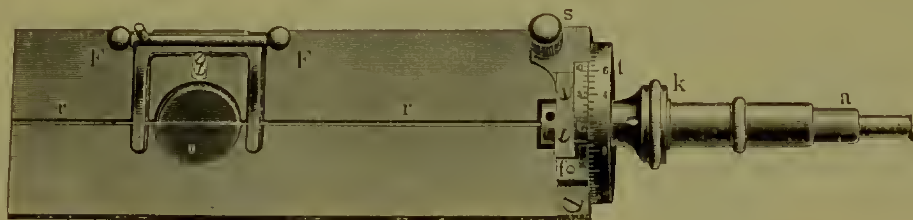
7. Drehung des Theilkreises entweder direkt oder mittels des Knopfes, um alle Seitenansichten des Objektes zu gewinnen.

IV. Der Kapillarrotator*)

dient zur Betrachtung kleiner durchsichtiger Objekte von allen Seiten in durchfallendem Licht. Der wesentliche Theil ist eine Glaskapillare, in welche das Objekt eingesaugt wird und die um ihre Axe gedreht wird. Die Kapillare ruht in der Rinne einer metallenen Platte von der Form eines englischen Objektträgers. Die Platte ist von dem Ausschnitt *o* durchbrochen, dessen Boden ein auf einem Vorsprung ruhendes Glasplättchen bildet. Die dadurch entstehende Kammer wird zur Beobachtung mit Cedernholzöl ausgefüllt. Die Doppelklammer *F*, welche leicht federt, dient zur Sicherung einer ruhigen Rotation der Kapillare.

Der Träger der Kapillare befindet sich rechts an der Grundplatte. Die Vorrichtung »besteht im wesentlichen aus einer axial durchbohrten Welle mit in Grade getheilter Trommel und Antriebsknopf *k*, welche an dem einen der Kammer ferneren Ende der Grundplatte in besonderer Weise

Fig. 13.



so gelagert ist, dass sie sammt der in ihrer axialen Bohrung liegenden Kapillare in Bezug auf die Grundplatte gehoben und gesenkt werden kann, um einmal das Einlegen und Herausnehmen der Kapillaren zu erleichtern und andererseits eine Anpassung an verschiedene Capillardicken zu ermöglichen. Diese Beweglichkeit wird dadurch erreicht, dass das Lager für diese Welle, dessen Deckel zugleich den Nonius für die Gradtrommel trägt, auf einer einseitig befestigten, platten Feder *f* aufgesetzt ist, die es von der Oberfläche der Grundplatte abzuheben strebt. Diesem Bestreben wirkt eine Schraube *s* mit geränderten Kopf am freien Ende der Lagerplatte entgegen, durch deren Anziehen die Axenbohrung der Welle ganz in die Tiefe der grossen Längsrinne gesenkt werden kann, während sie sich beim Lösen der Schraube allmählich bis über die Oberfläche der Grundplatte erhebt und dadurch eben eine Entfernung der Kapillare ohne Inanspruchnahme auf Biegung ermöglicht.«

»Nach aussen erweitert sich die axiale Bohrung der Welle mit konischem Uebergange zu erheblich grösserem Durchmesser und ist an ihrem Ende innen mit Schraubengewinde versehen. In dieses Gewinde schraubt mit entsprechendem der eigentliche Kapillarträger, dessen in die hohle Welle eintauchendes, zugespitztes hohles und längsgeschlitztes Ende sich in dem Hohlkonus der Welle durch Stauchung zusammenzwängt und so die Kapillare

*) Der Preis der Apparate ist: Prismenrotator mit einfacher Spiegelung Mk. 62, mit doppelter Spiegelung Mk. 75, Kapillarrotator Mk. 50.

in ähnlicher Weise festklemmt wie die bekannten Schraubenbleistifte das in sie eingelegte dünne Graphitstäbchen.

Die andere Seite des Kapillarträgers wird von einem doppelten Rohrauszug eingenommen, der ähnlich wie ein Fernrohrauszug konstruirt ist und dazu dient, das überstehende Kapillarende vor dem Abbrechen bei zufälligem Anstossen zu bewahren.«

Gebrauchsanweisung:

»1. Ausschrauben des Kapillarträgers aus der Wellenhöhlung. Aufklappen der Doppelklammer *F*.

2. Einführung der Kapillare in den Kapillarträger vom Rohrauszug her.

3. Lösen der Schraube *s*, welche die Rotationswelle nach unten hält.

4. Einführung der Kapillare in die axiale Bohrung der Welle und des Schraubengewindes des Kapillarträgers in das entsprechende der Welle.

5. Vorsichtiges Anziehen dieses Gewindes, bis die Kapillare eben den Drehungen der Welle folgt.

6. Senkung der Welle und Kapillare durch Wiederanziehen der Schraube *s*, bis die Kapillare auf dem Rinnengrunde angelangt ist.

7. Fixiren des durch die Kammer verlaufenden Kapillarstücks durch Senkung der Doppelklammer *F*.

8. Fixiren des ganzen Apparates mittels der Objektklammern des Mikroskoptisches auf diesem, und zwar so, dass die Längsaxe von links nach rechts verläuft und die Rotationsvorrichtung sich rechts befindet. Die Kammer kommt centrisch über die Tischöffnung.

9. Sicherung des überstehenden Kapillartheils durch Anziehen des Rohrauszuges.

10. Anfüllen der Kammer mit Cedernholzöl.«

11. Einstellung des Objekts »eventuell nachdem die Klemmvorrichtung des Kapillarträgers etwas gelockert ist, durch Längsverschiebungen der Kapillare in der Rinne«.

D. Methoden zum Studium der Entwicklung unter veränderten äusseren Bedingungen.

I. Mechanisch veränderte Eiform.

a) Einsaugen in Kapillaren.

Roux[89]) hat 1885 Eier von R. fusca »in möglichst enge Glasröhren aspirirt.

Nach O. Hertwig[45]) wird bei Fröschen (speciell R. fusca) die gequollene Gallerte der befruchteten Eier so weit als möglich an die Dotterhaut heran abgeschnitten. Das eine Ende eines feinen Glasröhrchens wird auf das Ei gesetzt und auf dem andern Ende mit dem Mund gesogen, bis das Ei in die Kapillare eingetreten ist.

b) Kompression zwischen Glasplatten.

1. Ein, wenn auch unvollkommenes Verfahren ist zuerst von Pflüger[80]) angegeben worden. Die Einzelheiten dieses Verfahrens siehe im Original.

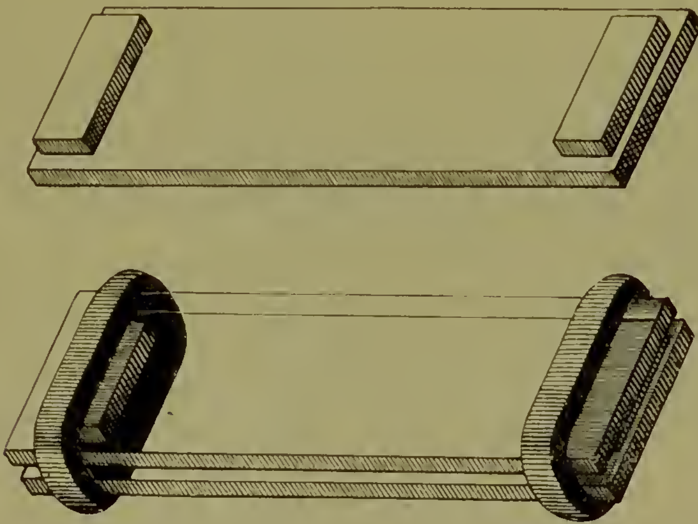
2. Kompression bei Amphibieneiern. Man bedient sich zweier gleich grosser Glasplatten, von denen die eine als Grundplatte (O. Schultze), die andere als Deckplatte bezeichnet wird. Hierzu können Objektträger jeden Formates genommen werden, ich benutze englisches Format, welches ich, wenn ich nur ein Ei aufsetzen will, halbire. Die Grundplatte trägt an ihren Enden zwei Glasstreifen von gleicher Dicke. Diese werden auf der Platte mit Kanadabalsam oder mit Deckglaskitt in möglichst dünner Schicht auf-

gekittet. In die Grundplatte wird mit einem Diamantstift die Stärke der Glasstreifen (der Plattenabstand) eingeritzt. — Statt die Glasstreifen aufzukitten, kann man sie ohne Kitt auf die Glasplatte legen. In diesem Fall wird die Dicke der Streifchen auf ihnen selbst eingeritzt. Ein Vortheil dieses Verfahrens ist die Vermeidung des Fehlers, der durch ungleiche Dicke der Kittschicht entstehen kann. Man hält alsdann die Streifchen in besonderen Schächtelchen nach der Grösse zusammenliegend. Bequemer für die Ausführung zahlreicher Versuche ist es, die Platten mit aufgekitteten Seiten fertig daliegen zu haben. Das Verfahren mit Nichtaufkittung ist von Herrn Prof. Tonkoff hier im Institut angewendet worden, jedoch noch nicht von ihm publicirt.

Die erforderliche Dicke der Glasstreifchen ist bei den einzelnen Species sehr verschieden und schwankt auch noch individuell innerhalb einer gewissen Breite.

Für Rana fusca darf sie nach Born[6]) nicht viel unter 1,4 Mm. sinken, da sonst das Ei platzt. Ich habe je nach der Grösse der Eier und Dicke der Gallerthülle Plättchen von 1,35—1,55 verwendet. Meine Angaben, sowie

Fig. 14.



die von Born beziehen sich auf Eier, deren Gallerthülle keine Substanz entnommen worden ist. Besonderen Messungen Born's zufolge verhält sich bei maximaler Kompression der Dickendurchmesser zum grössten Durchmesser des scheibenförmig abgeplatteten Eies wie 2:3, ja selbst wie 1:2.

Zur Befestigung der beiden Glasplatten auf einander dienen Gummiringe, welche an jedem Ende über das Plattenpaar geschoben werden. Die fertig käuflichen Gummiringe zerreissen leicht. Man schneidet daher aus einem Stück Schlauch Ringe von $^1/_4$—$^1/_2$ Cm. Breite. Für englisches Objektträgerformat braucht man eine Schlauchweite von etwa 12—13 Mm. im Lichten. Nur die besten Sorten rothen Schlauches genügen den Anforderungen. Born benutzte Bindfaden zum Fixiren der Deckplatte, der Gebrauch von Gummiringen dürfte indes vorzuziehen sein.

Ausführung: Auf ein Plattenpaar darf immer nur ein Ei genommen werden, nur bei Massenversuchen sollte hiervon eine Ausnahme gemacht werden.

Nachdem das Ei auf die Grundplatte gesetzt ist, nimmt man diese in die linke Hand zwischen den Daumen auf der einen und zwei oder drei der übrigen Finger auf der anderen Längsseite. Auf die horizontal gehaltene

Grundplatte legt man nun die Deckplatte so auf, dass sie ebenfalls zwischen den genannten Fingern festgehalten wird. In dieser Haltung werden beiderseits die Gummiringe herübergeschoben. Das Plattenpaar muss daher so gehalten werden, dass es über die Finger beiderseits noch ein Stück hervorragt.

Das Aufsetzen der Eier geschieht bei Froscheiern am besten vor der Befruchtung bei noch nicht gequollener Hülle. Später verschiebt sich das Ei sehr leicht beim Aufsetzen der Glasplatte und es lässt sich kein so hoher Grad der Kompression (Born) anwenden, ohne das Ei zum Platzen zu bringen. Nach dem Aufsetzen des Eies wird der Samen zugesetzt, indem man denselben mit einem Pinsel um das Ei streicht und nun sofort komprimirt. Dies gilt für Froscheier. Bei den Eiern von Triton, wo die Hülle weniger stark quillt, kann man zu jeder Zeit mit dem gleichen Vortheil komprimiren. man thut es daher zweckmässiger Weise erst dann, wenn es für den Versuchszweck erforderlich ist. Das Tritonei lässt sich stärker komprimiren. wenn man die sehr pralle äussere Hülle vorher anschneidet, als bei unverletzten Hüllen. Jedoch muss man sich vorsehen, das Ei hiebei nicht ganz aus den Hüllen zu isoliren, was sich aber bei einiger Vorsicht leicht vermeiden lässt.

Je nachdem man die Eier in der Richtung der Axe oder in der darauf senkrechten Richtung zu komprimiren beabsichtigt, muss ein verschiedenes Verfahren eingeschlagen werden. Natürlich ist auch Kompression in jeder anderen beliebigen Richtung möglich, aber nur die beiden angegebenen Hauptrichtungen sollen beschrieben werden. Die Beschreibungen gelten speciell für Rana fusca, welches bis auf ein kleines, weiss erscheinendes Feld an dem vegetativen Pol, d. h. der Unterseite schwarz pigmentirt ist.

a) Kompression in der Axe. Bei dem einen Verfahren setzt man das Ei mit dem weissen Pol nach oben auf die Grundplatte und dreht nach der Besamung und dem Auflegen der Deckplatte das Plattenpaar um. Nach dem anderen Verfahren (Born) wird das Ei mit dem weissen Pol nach unten aufgesetzt. Man muss daher die Grundplatte vor der Kompression umdrehen. und während man sie freihält, die Stellung des Eies mit einer Nadel oder einem Pinsel noch einmal korrigiren. Dann wird die Grundplatte wieder normal gelagert und das Auflegen und die Fixirung der Deckplatte ausgeführt.

b) Kompression senkrecht zur Axe (Born). Die Grundplatte wird auf ihre Längskante gestellt und das Ei mit dem weissen Pol nach unten seitlich an die Platte angesetzt. Es haftet infolge der klebrigen Beschaffenheit der Hülle leicht an der Glaswand, ohne herabzugleiten. Darauf wird das Ei durch Anlegen der Deckplatte fixirt und die Platte durch die Rippe befestigt. Das Plattenpaar wird dann senkrecht im Wasser aufgestellt.

Bei anderen Amphibieneiern als denen von R. fusca (und R. arvalis) hat man bei der Orientirung Schwierigkeiten. Bei R. esculenta gewährt das weisse Feld noch einigen Anhalt, jedoch ist die Orientirung schon schwieriger. Noch mehr ist es bei den übrigen Amphibieneiern der Fall. Um nun auch bei diesen eine möglichst genaue Orientirung zu erhalten, empfiehlt es sich, die Eier nach der Befruchtung so lange in nicht komprimirtem Zustande in Wasser zu lassen, bis sie sich von selbst der Schwere nach einstellen und die von selbst eingestellten Eier zu komprimiren. Dies müsste wohl am besten unter Wasser geschehen, da die gequollene Hülle an dem herausgenommenen Ei zerrt und seine freie Drehung behindern kann. Dies ist nur ein Vorschlag.

Die Aufstellung der mit einem Ei beschickten Kompressionsplatten kann in Wasser geschehen. Angenehmer für eine fortlaufende Beobachtung ist es, sie in einer feuchten Kammer aufzuheben. Man giebt alsdann soviel Wasser

mit einer Pipette zwischen die Platten, dass die Gallerthülle genügend quellen kann und das Ei ringsum von etwas Wasser umgeben ist. Unzweckmässig wäre es, den ganzen Raum zwischen den Platten mit Wasser auszufüllen. da erstens dann doch leicht Wasser auf den Objekttisch des Mikroskopes läuft und andererseits der Austausch der Respirationsgase viel weniger lebhaft erfolgen kann, da die der Luft ausgesetzte Oberfläche des Wassers dann eine verhältnissmässig viel geringere ist.

Hat man sehr viel Plattenpaare aufzustellen, so benutzt man eine feuchte Kammer mit mehreren Etagen.

3. Anwendung der Plattenkompression auf Seeigeleier. Die zu komprimirenden Eier müssen membranlos sein. Dies geschieht nach der auf pag. 268 angegebenen Methode.

Um die Eier zu schonen, komprimirt man sie nicht von vornherein, sondern beginnt mit der Kompression erst dann, wenn der specielle Versuchszweck es erfordert.

Das Verfahren ist nach Driesch[16]) folgendes: Man bringt eine »mittelstarke Borste« quer auf den Objektträger, dem einen Ende desselben genähert. Ein Haufen Eier »mit nicht zu wenig und nicht zu viel Seewasser« wird in die Mitte gebracht und ein rechteckiges Deckglas auf Eier und Borste gelegt. Das Präparat kommt unter eine mit Wasserdampf möglichst gesättigte Glocke.

Bei diesem Verfahren befinden sich die Eier in sehr verschieden starker Kompression, und zwar sind diejenigen am stärksten komprimirt, welche am weitesten von der Borste entfernt liegen. Die Kompression macht ausserdem die Eier nicht zu einer planparallelen Scheibe, sondern zu einer keilförmigen. Dieser im Princip stets vorhandene Uebelstand wird umso mehr abgeändert, je länger das verwendete Deckglas ist. Ausserdem ist bei den sehr kleinen Eiern die Höhendifferenz zwischen den Plattenabständen an zwei in der Längsrichtung des Objektträgers diametral gegenüber gelegenen Punkten eines Eies sehr gering.

Das Verfahren ist angewendet bei Sphaerechinus granularis und Echinus microtuberculatus (Driesch) und bei Nereïs (Wilson[110]).

Das Kompressorium von Ziegler siehe Artikel Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Keilförmige Kompression der Amphibieneier führt Born aus, indem er nur auf einer Seite der Grundplatte einen Glasstreifen aufkittet. Hierbei weichen die Eier bei starker Neigung gegen die Basis zu aus, bei geringerer (6^0) gelingt die keilförmige Kompression.

II. Temperatur, Licht, Elektricität, Centrifugalkraft.

Die hierhergehörigen Apparate werden, soweit sie zum mikroskopischen Instrumentarium rechnen, in anderen Artikeln der Encyklopädie beschrieben. Die übrigen Methoden und Apparate können gemäss den in der Vorbemerkung dargelegten Grundsätzen nicht berücksichtigt werden.

Wegen der Litteratur verweise ich für Temperatur auf: [14]), [16]), [46]), [47]), [96]) und z. B. auf die Litteraturzusammenstellung bei Davenport: Experimental Morphology, pag. 467, sowie auf Hertwig, Zelle und Gewebe, Verworn, Allg. Phys., u. s. w.,

für Licht auf: [14]) und die genannten grösseren Werke,

für Elektricität auf: Roux, Ges. Abh., Bd. II und Rossi, Arch. f. E. IV, etc.,

für Centrifugalkraft auf: O. Hertwig[46]), sowie die botanischen Werke von Sachs, Pfeffer, Wiesner etc.,

für Schwerkraft auf: [6]), [49]), [76]), [78]), [80]), [83]), [91]), [95]), [99]), [102]).

III. Chemische Veränderung des Mediums.

a) Vorbemerkungen.

Die Herstellung von Lösungen und die dabei zu beachtenden Regeln werden als bekannt vorausgesetzt.

Für Versuche an Süsswasserthieren werden die betreffenden Stoffe einfach dem Süsswasser zugesetzt. Wenn die im Süsswasser enthaltenen geringen Mengen gelöster Stoffe die Quelle von Versuchsfehlern bilden würden, so muss man von destillirtem Wasser ausgehen. Für dessen Verwendung gelten die auf pag. 290—291 gegebenen Vorsichtsmassregeln.

Das Folgende bezieht sich daher nur auf Seethiere.

b) Herstellung von künstlichem Seewasser.

Fertige koncentrirte Lösung künstlichen Seewassers, welche zur Verwendung im Aquarium nur verdünnt zu werden braucht, kann man vom Berliner Aquarium beziehen.

Herbst hat zwei etwas voneinander abweichende Verfahren angegeben.

a) Nach dem ersten [38]) löst man zunächst in 100 Gewichtstheilen destillirten Wassers $NaCl$ 3 Grm., KCl 0,07 Grm., $MgSO_4$ 0,26 Grm., $MgCl_2$ 0,5 Grm., $CaSO_4$ 0,1 Grm.

Zu der Lösung dieser Stoffe wird eine Messerspitze phosphorsauren Kalks zugesetzt und die Flüssigkeit unter öfterem Umschütteln ca. 15 Stunden stehen gelassen und abfiltrirt.

Die nun folgende Operation bezweckt einen Gehalt an $CaCO_3$. Hiefür sind zwei Verfahren angegeben. Nach dem ersten umständlicheren wird gefälltes Calciumkarbonat zugesetzt und um es zu lösen, Kohlensäure im langsamen Strom $^1/_2$—$1^1/_2$ Stunden (je nach der Flüssigkeitsmenge) hindurchgeleitet. Das mit Kohlensäure bis oben gefüllte Gefäss bleibt ca. 12 Stunden verschlossen stehen. Vom ungelösten Karbonat wird abfiltrirt, die Flüssigkeit mit Luft geschüttelt und in flachen Schalen vor Staub geschützt stehen gelassen. Hierbei entweicht noch Kohlensäure und wird weiterhin Luft aufgenommen. Der von neuem ausgefallene kohlensaure Kalk wird abfiltrirt. Die Lösung bleibt einige Tage stehen, und ist fertig, wenn kein Kalk mehr ausfällt. Nach dem zweiten einfacheren Verfahren wird Magnesiumkarbonat gepulvert zugesetzt und Luft 20—24 Stunden lang hindurchgeleitet. Hierbei bildet sich durch Umsetzung des $MgCO_3$ mit dem schon vorhandenen $CaSO_4$ sowohl $MgSO_4$ wie auch das beabsichtigte $CaCO_3$.

b) Spätere Vorschriften Herbst's [40]) enthalten folgende Abänderungen: 1. Statt 0,07% KCl wird 0,08%, statt 1,0% $CaSO_4$ später 1,6% genommen. Diese Aenderungen sind nicht wesentlich. 2. Die weitere Abweichung betrifft die Phosphate und Eisensalze. Der Zusatz dieser Salze wurde unterlassen und ein sekundäres Phosphat höchstens zur Erzielung einer gewissen Alkalinität hinzugesetzt. Die praktische Brauchbarkeit derartigen, vom natürlich vorkommenden abweichenden Seewassers ist für die Entwicklung der Seeigellarven von Herbst erwiesen, für andere Objekte muss es als unentschieden bezeichnet werden.

c) Massregeln für die Verwendung destillirten Wassers.

Das zur Herstellung des künstlichen Seewassers verwendete Wasser kann Brunnen-, Leitungs- oder Quellwasser sein. Muss man jedoch von destillirtem Wasser ausgehen, so ist Folgendes zu beachten.

1. Alles aus Kupferapparaten destillirte Wasser ist auf Kupfergehalt verdächtig. Ist die Destillation auf diese Weise erfolgt, oder ist die Darstellungsweise unbekannt, so muss der Verdampfungsrückstand wenigstens eines Liters auf Kupfer durch Zusatz von $K_4Fe(CN)_6$ geprüft werden. Ist

der Ausfall der Probe positiv, so kann das Kupfer (Herbst) auf 2 Weisen entfernt werden.

a) Durch tropfenweisen Zusatz einer $^1/_8$%igen $K_4 Fe (CN)_6$-Lösung (pag. 495). Jeder Ueberschuss muss vermieden und mit dem Filtrat müssen vorher Probekulturen angesetzt werden.

b) Durch 24stündiges Stehenlassen mit einem Ueberschuss von $Ca HPO_4$ unter wiederholtem Schütteln. $Ca_3 P_2 O_8$ fällt weniger vollständig aus (pag. 502). Ebenso ist die Ausfällung mit Magnesiumkarbonat weniger vollständig. Ist, wie oben für die Herstellung künstlichen Seewassers angegeben, schon $Ca H PO_4$ im Ueberschuss zugefügt worden, so ist hier schon eine Ausfällung des Kupfers geschehen.

2. Man vermeidet das Kupfer ganz, wenn man aus Glasgefässen umdestillirt. Die Gefässe müssen (Herbst) aus Jenenser Glas sein, da von gewöhnlichen Glassorten zuviel Substanz in Lösung geht. Aus dem Jenenser Glase geht (Herbst) Magnesium und Zink in das Wasser über. Wie besondere mit Zink angestellte Versuche ergaben, können die aus dem Glase übergegangenen Mengen nicht von schädlichem Einfluss sein. Gebrauchte Glaskolben sind einwandsfreier als neue, da nach Ostwald die Oberfläche von Glasgeräthen weniger angreifbar wird, wenn sie einige Zeit der Wirkung von Wasserdämpfen ausgesetzt waren.

d) Bemerkungen.

Statt der angegebenen Menge von $Mg Cl_2$, 0.5%, enthält das Wasser des Mittelmeeres 0,32%. Die Zahl wurde von Herbst infolge der Feuchtigkeit des Magnesiumchlorids erhöht. Um genau bestimmte Mengen davon zuzusetzen, muss eine bestimmte Menge Salz abgewogen und gelöst werden. Der Titer der Lösung wird bestimmt und daraus der Trockensalzgehalt des feuchten Magnesiumchlorids bestimmt.

b) 3. Alle obigen Zahlen beziehen sich übrigens auf trockene Salze und ohne Krystallwasser. Jedoch ist es nach Herbst nicht nöthig, die Salze stets vom Krystallwasser zu befreien, da geringe Mengendifferenzen ohne Belang sein sollen. Für die Gesammtkoncentration der Lösung ist zu beachten, dass nach Löb das Optimum des Wachsthums für Tubularia aus dem Mittelmeer bei einem Salzgehalt von 2,5 liegt, während der Salzgehalt des Mittelmeeres 3,8 beträgt. Ferner kann man nach Herbst das Seewasser mit 20—25% Süsswasser verdünnen, ohne die Entwicklung der Eier zu alteriren.

e) Behandeln der Objekte beim Uebertragen in die künstlichen Mischungen.

Objekte, welche sich zu Boden senken, bringt man nach Herbst in grosser Menge in ein Gefäss mit wenig Wasser, so dass sie sehr dicht liegen, entnimmt daraus welche mit einer Glaspipette und bringt wenig Eimaterial (2 Tropfen) in ein Gefäss mit 20 Ccm. der Versuchslösung, lässt zu Boden setzen, giesst ab und füllt noch einmal mit der Versuchsflüssigkeit auf. Wünscht man auch die letzten Spuren der ursprünglichen Flüssigkeit zu entfernen, so kann das Abgiessen solange wiederholt werden, bis man sicher zu sein glaubt, beziehungsweise sich durch eine Reaktion von der Abwesenheit des etwa störend wirkenden Körpers überzeugt.

Freischwimmende Larven bringt Herbst in möglichst grosser Zahl in ein Salznäpfchen. Durch Beklopfen der Wand sammeln sie sich am Boden an, werden herauspipettirt und in ein Näpfchen mit der Versuchsflüssigkeit übertragen. Das Zusammenklopfen und Herauspipettiren wird nach Erfordern wiederholt.

f) Wirkungen von Salzlösungen im Einzelnen.

Die Einwirkung der Salzlösungen und Lösungen anderer Stoffe im Einzelnen zu besprechen, verbietet der zur Verfügung stehende Raum. Ausserdem würde dadurch der Rahmen einer Methodenangabe überschritten werden. Ich beschränke mich daher auf Anführung der Litteratur: [3]), [4]), [33]), [34]), [38]), [45]), [46]), [81]), [82]), [109]), [111]), [112]), sowie die unter *D.* II. citirten grösseren Werke.

E. Methoden zur Erzeugung künstlicher Parthenogenese.

Das Verfahren besteht darin, dass die unbefruchteten Eier einige Zeit in einer Lösung von höherer Koncentration als Seewasser verweilen und dann wieder in gewöhnliches Seewasser übertragen werden. Statt der Erhöhung der Koncentration werden in einigen Verfahren auch andere physikalische Agentien. beziehungsweise der Zusatz von kleinen Mengen gewisser Stoffe verwendet, welche nicht durch Erhöhung des osmotischen Druckes, sondern durch andere Eigenschaften wirken.

I. Allgemeine Vorsichtsmassregeln.

a) Alle Gefässe und Geräthe müssen mit Süsswasser gereinigt werden. Die Instrumente können auch durch Kochen in Wasser oder durch Erhitzen in einer Flamme sterilisirt werden.

b) Die verwendeten Weibchen werden mehrmals mit Süsswasser. am besten unter der Leitung, abgespült. Sind Männchen dazwischen gerathen. so müssen die mit ihnen in Berührung gekommenen Gefässe und Instrumente sofort entfernt werden und dürfen nicht mehr zur Benützung kommen (Löb). Die Entleerung der Eier erfolgt entweder, indem man die Unterfläche der Weibchen mit warmem Seewasser bespült (Hunter). oder die Thiere werden geöffnet und die Eier mit einer Pipette dem Ovar entnommen.

c) Das benutzte Seewasser wird auf 65—70° erhitzt und wieder abkühlen gelassen. Zur Sättigung mit Sauerstoff wird es mit Luft geschüttelt oder in flachen Schalen stehen gelassen. Oder man lässt es aus dem Hauptgefäss durch einen fein ausgezogenen Heber in dünnem Strahl in die tiefer gestellten Schalen ausfliessen (Hunter).

d) Es wird neben dem Hauptversuch stets ein Kontrollversuch mit reinem sterilisirtem Seewasser angesetzt.

II. Die zur Verwendung gelangenden Flüssigkeiten.

a) Koncentrirtes Seewasser (Hunter [48]).

Seewasser wird durch Abdampfen auf dem Wasserbade auf $^3/_4$ seines Volumens eingedunstet. In dieser Flüssigkeit sollen die Eier von Arbacia 2 Stunden 20 Minuten verweilen. Koncentrirtes Seewasser ist noch nicht wirksam, wenn es auf $^4/_{10}$, nicht mehr wirksam, wenn es auf die Hälfte eingedampft wird.

b) Zusätze von Salzen zu Seewasser.

Nach den Angaben Löb's [58c]) ist als beste Mischung für Seeigel (Arbacia, pag. 462) eine aus gleichen Theilen einer $^{20}/_8$ Normal-$MgCl_2$-Lösung und Seewasser bestehende anzusehen. Hierin sollen die Eier 2 Stunden verweilen.

Nach Wilson [109]) ist für Toxopneustes lividus gleichfalls eine Mischung von gleichen Theilen einer $^{20}/_8$ Normallösung $MgCl_2$ (circa 12%ige Lösung) und Seewasser am geeignetsten. Zu einer späteren Jahreszeit gelingen nach Wilson die Versuche besser mit stärkeren Lösungen. Ueberhaupt gelingt

in der späteren Jahreszeit die künstliche Parthenogenese oft am allerbesten, und zwar mit Eiern, welche sich mit Sperma nicht mehr befruchten lassen. In der angeführten Lösung bleiben die Eier etwa eine Stunde. Diese Angabe gilt für die erste Hälfte der Saison. Später wird die Einwirkung auf 2 Stunden und länger ausgedehnt, auch wenn man ausserdem schon eine stärkere Lösung genommen hatte. Für weitere verwendbare Mischungen siehe [47a]), [59a]) und die Abhandlungen von Löb.

III. Künstliche Parthenogenese durch Schütteln.

Die Eier müssen vorher die Polkörper ausgestossen haben. Daher sollen sie zunächst 2—4 Stunden in (sterilisirtem!) Seewasser gelegen haben. Darauf werden die Eier in einem Reagensglase 5—6mal kräftig auf- und niedergeschüttelt.

Der Versuch gelingt bei den Eiern eines Seesternes (wahrscheinlich Asterias Forbesii, Mathews) und bei denen von Amphitrite, Chaetopterus und Nereis (Löb, Fischer nach Angabe von Mathews). Das Verfahren gelingt nicht bei Arbacia.

IV. Künstliche Parthenogenese durch Erniedrigung der Temperatur (A. W. Greeley [32a]).

Dieses Verfahren gelang bei Asterias Forbesii. Folgende drei Punkte sind zu beachten:

1. Der Zeitpunkt des Abkühlens. Die Eier dürfen weder vor der Reife, noch mehrere Stunden nach der Reife auf Eis gesetzt werden, sondern sobald die Reife vollendet ist (circa 4—5 Stunden nach Entleerung der Eier).
2. Die Temperatur beträgt am besten 4 oder 5° C.
3. Die Dauer der Kälteeinwirkung soll 6 oder 7 Stunden betragen.

V. Befruchtende Fermente.

Die Versuche von Gies haben in Bezug auf die Existenz eines befruchtenden Fermentes ein völlig negatives Resultat gehabt. Daher können wir von einer Methode, durch ein (hypothetisches) befruchtendes Ferment künstliche Parthenogenese zu erzeugen, nicht reden. Die positiven Ergebnisse Pieri's, Dubois' und Winkler's müssen daher wohl auf andere Weise erklärt werden.

VI. Ephebogenesis.

Rawitz giebt eine Methode zur Entkernung unreifer Holothurieneier an, welche dann mit Seeigelsamen befruchtet werden. Es muss auf die Originalarbeit verwiesen werden.[81, 85])

F. Verwachsungsversuche mit Embryonen.

I. Amphibien (Born [8]).

Für die Beurtheilung des Materiales gilt nach Born Folgendes.

Tritonenlarven sind sehr weich und empfindlich, daher wenig geeignet. Dasselbe gilt nach Harrison [35]) für Amblystomalarven. Bufo variabilis und calamita, sowie Pelobates fuscus zeichnen sich durch grosse Energie der Flimmerbewegung aus, ihre Immobilisirung macht daher Schwierigkeiten. Pelobates ist insofern noch günstiger als die beiden Bufoarten, als er ein grösseres Wundheilungsvermögen besitzt. Die Larven von Pelobates, wenigstens die jüngeren, haben einen kreisrunden Querschnitt, was ihre Immobilisirung erschwert.

Das Wundheilungsvermögen ist bei Rana fusca und arvalis schlecht, jedoch ist arvalis weniger empfindlich gegen Verletzungen. Bei Rana fusca

führt die geringste Verletzung gewöhnlich in 2—3 Tagen zum Untergang der Larve.

Bombinator igneus besitzt ein grosses Wundheilungsvermögen, seine Widerstandskraft ist grösser als die von Rana fusca, reicht jedoch nicht an Rana esculenta heran. Bombinator gewährt als Material den grossen Vortheil, mehrere Laichperioden von April bis Juni zu haben.

Von amerikanischen Fröschen sind Silvatica, Palustris und Virescens nach Harrison sehr geeignet.

Rana esculenta ist nach Born das eigentlich klassische Objekt. Die Gründe dafür sind nach Born:

1. Sein grosses Wundheilungsvermögen.

2. »Die Larven von Rana esculenta sind in den für uns in Betracht kommenden Stadien ganz besonders reich an Dotter. Die Dottersubstanz selbst ist sehr weich und klebrig; es gilt dies nicht nur für die eigentlichen Dotterzellen des Bauches . . ., sondern auch für alle anderen Theile.«

3. Die Flimmerbewegung ist sehr schwach.

Das zum Operiren geeignetste Stadium sind Larven »von 3—3.5 Mm. Länge. Bei diesen ist die Schwanzknospe schon etwas länger, der Kopf ist deutlich abgesetzt, die Haftnäpfe treten an ihnen mächtig hervor, die Kiemengegend bildet eine scharf abgegrenzte Anschwellung«.

Das Auspellen der Embryonen aus den Hüllen mit Scheere und Pincette soll in physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen werden. Zur Uebertragung aus einem Gefäss in ein anderes werden die Embryonen oder ihre Theile in bekannter Weise in Glasröhrchen eingefangen und übertragen. Zur Orientirung über Amphibienlarven in operativer Hinsicht vergl. ferner Schaper.[98a])

Instrumentarium. Zum Schneiden benutzt Born eine stark konvexe, dünne Impflanzette. Er schneidet die Larven in Pappschalen oder Glasschalen, die mit Kork ausgelegt sind. Am schonendsten für die Messer dürfte es vielleicht sein, die Schalen mit Paraffin auszugiessen.

Zur Verschiebung und richtigen Lagerung der Embryonen dienen feine weiche Pinsel. Die Immobilisirung der Stücke wird durch Stücke von Silberdraht erreicht, welche 1—1,5 Cm. lang und 0,4—1,5 Mm. dick sind. Diese Stücke müssen in geeigneter Weise gelagert werden. Die beiden nebenstehenden Figuren veranschaulichen die Lagerung für die beiden hauptsächlichsten Fälle. Fig. 15 entspricht der Verheilung mit parallelen Axen nebeneinander, Fig. 16 der Verheilung hintereinander.

Aufzucht. Die Kochsalzlösung muss nach einigen Tagen allmählich verdünnt und schliesslich durch reines Wasser ersetzt werden.

»Ungemein wichtig ist es, für reichliche Sauerstoffzufuhr zu sorgen. Man kann darin gar nicht weit genug gehen. Ich habe die besten Resultate bekommen, als ich schon die Kochsalzlösung zu durchlüften begann.«

Verluste hat man besonders am zweiten bis dritten Tage nach der Vereinigung und dann am 10. bis 20. Tage, wenn die Larven zur Nahrungsaufnahme übergehen.

Vereinigung verschiedener Arten. Bei der Vereinigung von Rana esculenta mit fusca oder arvalis muss man jüngere esculenta mit älteren fusca oder arvalis paaren, da esculenta schneller wächst. Wegen der früheren Laichzeit von fusca und arvalis muss man den Laich in Eiswasser oder wenigstens kalt halten, bis esculenta-Laich zu haben ist, oder man lässt sich esculenta aus dem Süden schicken.

Nach Harrison[35]) ist die Kombination von Rana palustris und virescens sehr günstig, da sie sich durch einen lebhaften Farbenkontrast unterscheiden. Die Eier und Embryonen von palustris sind hell gelblichbraun, die von virescens dunkelbraun, fast schwarz. R. virescens laicht früher als R. palustris,

für das Erhalten von gleichaltrigem Laich gilt daher dasselbe wie für fusca und esculenta. Zur Vereinigung von Larven verschiedener Gattungen empfiehlt Born Rana esculenta und Bombinator igneus.

Harrison[35]) züchtet die Larven von Anfang an in kaltem Leitungswasser. Dadurch vermeidet er erstens den stets sehr bald erforderlich werdenden unbequemen Ersatz der Kochsalzlösung durch Wasser und zweitens die schädliche Wirkung des Kochsalzes, welche sich, abgesehen von der Begünstigung der allerersten Wundheilungsprocesse, sehr bald durch Kränklichkeit und Zurückbleiben in der Entwicklung bemerklich macht.

II. Lepidopteren.

Verwachsungsversuche an Schmetterlingspuppen sind von H. E. Crampton[12]) angestellt. Arten mit kurzen Puppenstadien sind wenig geeignet, ausgezeichnet dagegen die überwinternden Puppen. Die besten Resultate gaben Philosomia cynthia, Samia cecropia, Callosomia promethea, Telea polyphemus und Actius luna.

Die Puppen werden mit einem starken Knorpelmesser oder einem schweren Rasirmesser durchschnitten. Der zuerst operirte Komponent wird

Fig. 15.

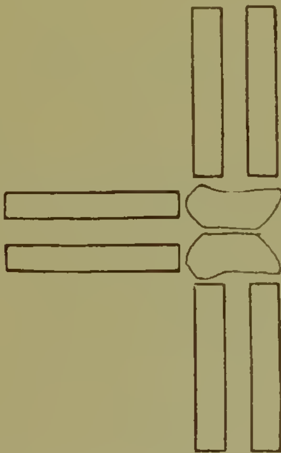
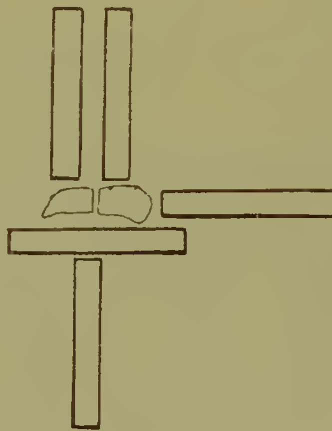


Fig. 16.



mit der Wundfläche nach oben placirt, um das Herausfliessen von Hämolymphe zu verhindern. Beim Zusammenbringen der beiden Komponenten muss jede Spur von Luft vermieden werden. Wenn der Kontakt der Wundflächen nicht von selbst vollkommen ist, so darf man einen Komponenten etwas drücken, bis der Inhalt beider Puppen in Kontakt und die Luft ausgetrieben ist. Der Rand der Vereinigungsfläche muss sorgfältig mit geschmolzenem Paraffin bedeckt werden. Dasselbe gilt von allen an den Thieren bestehenden Wunden. Paraffin ist jedem anderen Verschlussmaterial vorzuziehen. Es soll nicht über 50° heiss sein.

Die wenigsten Verwachsungen können ohne operative Hilfe ausschlüpfen. Gewöhnlich muss das Paraffin und ein Theil der Hülle mit Hilfe einer Zange entfernt werden. Den auskriechenden Exemplaren muss ein Pflanzenstengel oder sonst ein Gegenstand zum Hochklettern gegeben werden, damit sie ihre Flügel entfalten können.

III. Methode von Driesch zur Verschmelzung von Echinidenkeimen.

Die Eier werden 3—5 Minuten nach der Befruchtung membranlos gemacht durch Schütteln (pag. 268). Die der Membran beraubten Eier, welche eine äusserst weiche plastische Beschaffenheit haben, kommen in kalkfreies Seewasser, welches durch Zusatz einiger Tropfen $^{1}/_{2}{}^{0}/_{0}$iger Natronlauge (6 Tropfen

auf 20 Ccm.) alkalisch gemacht ist. Nach 10—20 Minuten kommen die Eier wieder in normales Seewasser zurück.

Die Ausbeute an verschmolzenen Bildungen ist nur gering und stark von der Individualität der Eier abhängig. Unter günstigen Umständen erhält man etwa 20 Doppelbildungen bei 1000 Eiern.

Auch aus blos geschütteltem Material erhält man zuweilen Doppelbildungen, jedoch nach DRIESCH unter 1000 Eiern nur etwa 2—3 Verschmelzungen. Ueber künstliche Rieseneier bei Chaetopterus siehe LÖB[58a]).

Alle übrigen Beobachtungen von Verschmelzung ganzer Eier (ZOJA, MORGAN etc.) sind nur gelegentlich und ohne Methode erhalten worden.

G. Methode zum Studium der Cytotaxis isolirter Blastomeren.

Eine Methode zum Studium cytotaktischer Erscheinungen an den isolirten Furchungskugeln von R. fusca hat ROUX angegeben. Es muss in Betreff dieser Methode auf die Originalabhandlung verwiesen werden.

Litteratur: [1]) ASSHETON R. (Proc. Roy. Soc., Bd. 60, 1896), [2]) BARFURTH D. (Anat. Heft, Bd. 3, 1893), [3]) BATAILLON E. (Arch. Entwickl., Bd. 11, 1901), [4]) derselbe (Arch. Entwickl.. Bd. 12, 1901), [5]) BORN G. (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), [6]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1884), [7]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1894), [8]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 4, 1896/97), [9]) BOVERI TH. (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [10]) CHABRI L. (Journ. de l'Anat. Phys., 23. Jahrg., 1887), [11]) CRAMPTON H. (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [12]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 11, 1899), [13]) DRIESCH H. (Zeit. wiss. Zool., Bd. 53, 1892), [14]) derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 53, 1892), [15]) derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 55, 1892/93), [16]) derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 55, 1892/93), [17]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), [18]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 1, 1895), [19]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [20]) derselbe uud T. H. MORGAN (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [21]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [22]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 4, 1896/97), [23]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 10, 1900), [24]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 10, 1900), [25]) H. ENDRES und H. E. WALTER (Arch. Entwickl.. Bd. 2, 1895/96), [26]) H. ENDRES (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [27]) FIEDLER K., Festschrift f. NÄGELI und A. v. KÖLLIKER, Zürich 1891), [28]) FISCHEL A. (Arch. Entwickl., Bd. 6, 1897/98), [29]) FOL H. (Arch. sc. phys. nat., III, Bd. 11, 1884), [30]) GERLACH L. (Anat. Anz., Bd. 2, 1887), [31]) GIES WILLIAM J. (Amer. Journ. Phys., Bd. 6, 1901), [32]) GODLEWSKI E. jun. (Arch. Entwickl.. Bd. 11, 1901), [32a]) GREELI A. W. (Amer. Journ. Phys., Bd. 6, 1902), [32b]) GREENOUGH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [33]) GURWITSCH A. (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), [34]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [35]) HARRISON R. G. (Arch. Entwickl., Bd. 7, 1898), [36]) HERBST C. (Biol. Centr., Bd. 13, 1893), [37]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895), [38]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 5. 1897), [39]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 9, 1899/900), [40]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 11, 1901), [41]) HERLITZKA A. (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [42]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 4, 1897), [43]) HERTWIG O. u. R. (Jena Zeit. Natur., Bd. 20, 1887), [44]) HERTWIG O. (Jena. Zeit. Natur., Bd. 24, 1890), [45]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 42, 1893), [46]) derselbe (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 1897, II), [47]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 51, 1898), [47a]) HERTWIG R. (Fest. Gegenbauer), [48]) HUNTER S. J. (Amer. Journ. Phys., Bd. 6, 1901), [49]) KATHARINER L. (Arch. Entwickl., Bd. 12, 1901), [50]) KOPSCH FR. (Sitz. Ges. uat. Freunde, Berlin 1895), [51]) derselbe (Verh. anat. Ges., Berlin 1896), [52]) derselbe (Verh. anat. Ges., Kiel 1898), [53]) derselbe (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 17, 1900), [54]) derselbe (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 17, 1900), [55]) KUPFER C. (Jahresber. d. Kommission zur wissenschaftl. Untersuch. d. deutsch. Meere in Kiel für die Jahre 1874, 1875, 1876, IV., V. u. VI. Jahrg., Berlin 1878), [56]) LÖB J. (Untersuchungen zur physiologischen Morphologie der Thiere, II. Organbildung und Wachsthum, Würzburg 1891), [57]) derselbe (PFLÜG. Arch., Bd. 55, 1894), [58]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 1, 1895), [58b]) derselbe (Amer. Journ. Phys., Bd. 3, 1899/1900), [58c]) derselbe (Amer. Journ. Phys., Bd. 3, 1900), [58d]) derselbe (Amer. Journ. Phys., Bd. 4, 1901), [59]) MATHEWS A. P. (Amer. Journ Phys., Bd. 6, 1901), [59a]) derselbe (Amer. Journ. Phys., Bd. 4, 1900), [60]) METSCHNIKOFF (Embryologische Studien an Medusen, Wien 1886), [61]) derselbe (Arb. zool. Inst., Wien 1886), [62]) MITSUKURI K (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [63]) MITROPHANOW P. (Arch. Entwickl., Bd. 6 u. 10, 1897 u. 1900), [64]) MORGAN T. H. (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), [65]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [66]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895). [67]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [68]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [69]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 2, 1895/96), [70]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [71]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [72]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 8, 1899), [73]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 10, 1900), [74]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 13, 1901/02), [75]) NORMANN (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [76]) PATTEN W. (Zool. Anz., 1894), [77]) PEEBLES FL. (Arch. Entwickl., Bd. 7. 1898), [78]) PFLÜGER E. (PFLÜGER's Arch., Bd. 31. 1883), [79]) derselbe (PFLÜGER's Arch., Bd. 32, 1883), [80]) derselbe (PFLÜGER's Arch., Bd. 34, 1884), [81]) RAUBER (Sitz. nat. Ges. Leipzig, X. Jahrg., 1883), [82]) der-

selbe (Sitz nat. Ges. Leipzig, X. Jahrg, 1883). [83]) derselbe (Sitz. nat. Ges., Leipzig 1884), [84]) Rawitz B. (Arch. Entwickl., Bd. 11, 1901), [85]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 12, 1901), [86]) Reinke Fr. (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 1895), [87]) Rossi U. (Arch. Entwickl., Bd. 4, 1896/97), [88]) Roux W. (Zeit. Biol., 1885), [89]) derselbe (Bresl. ärzt. Zeit., 1885, und Gesammelte Abhandlungen, Bd. 2), [90]) derselbe (Virch. Arch., Bd. 114, 1888 und Gesammelte Abhandlungen II, 1895), [91]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), [92]) derselbe (Arch. Entwick., Bd. 1, 1894/95), [93]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1896), [94]) derselbe (Arch. Entwiekl., Bd. 5, 1897), [95]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 10, 1900), [96]) Sala L (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., 33, 1893), [97]) Samassa P. (Arch. Entwick., Bd. 2, 1895/96), [98]) Schaper A. (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), derselbe (Arch. Entwickl.. Bd. 5, 1897). [99]) Schultze O. (Verh. anat. Ges. Strassburg, 1894), [100]) derselbe (Verh. phys. med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 28, 1894) [101]) derselbe (Arch. Eutwickl., Bd. 1, 1894/95), [102]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 55, 1900), [103]) Spemann H. (Arch. Entwickl., Bd. 12, 1901), [104]) Tonkoff W. (Sitz. Preuss. Ak. Wiss., Bd. 36, 1900), [105]) Wetzel G. (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895), [106]) Windle Bertram C. A. (Journ. of Anat. Phys., Bd. 29). [107]) Wilson Chas. B. (Arch. Entwickl., Bd. 5, 1897), [108]) Wilson E. B. (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), [109]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 12, 1901), [109a]) derselbe (Arch. Entwickl, Bd. 13, 1902). [110]) derselbe (Arch. Entwickl., Bd. 3, 1895), [111]) Yung E. (Arch. sc. Phys. nat., Bd. 14, 1885), [112]) derselbe (Arch. de Zoologie, Bd. 6, 1883), [113]) Zoja R. (Arch. Entwickl., Bd. 1 und 2, 1895/96), [114]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), [115]) v. Ebner (Festschr. f. Rollett, 1893), [116]) Endres (Schles. Ges. vaterl. Kultur, 1895, cit. Spemann).

Wetzel, Berlin.

Exsiccator. Die in den chemischen Laboratorien gebrauchten Exsiccatoren können auch in der Mikrotechnik oft recht gute Dienste leisten, z. B. um das Wasser aus Glycerinwassergemischen zu entfernen und so die Objekte in reines Glycerin überzuführen, vor allem aber bei der Einbettungstechnik, um das Eindringen der Einbettungsmassen zu erleichtern und die Luft aus den Präparaten zu entfernen. (Näheres siehe bei Paraffin und Celloidin.)

Exsudate und Transsudate. Die von Ehrlich in die Hämatologie eingeführten Methoden haben uns in der Bluthistologie Aufschlüsse gebracht, die man früher nicht einmal ahnte; man geht wohl nicht fehl, wenn man das Hauptprincip der Ehrlich'schen Anschauungen in der Gruppirung der Leukocyten nach ihrer specifischen Granulation sieht. Während früher jeder Forscher unter einer bestimmten Zellgruppe sich andere Gebilde dachte, hat Ehrlich mit seinen Methoden ein sicheres Fundament errichtet, auf dem sich weiter bauen lässt. Eine Zeit lang war man der Meinung, dass der Erbauer dieses Gebäudes auch selbst den Schlussstein gelegt habe. Doch gerade die in der letzten Zeit aufgetauchten zahlreichen Probleme zeigen, dass auf diesem Gebiete noch viel Arbeit zu leisten ist; doch das klassische Werk Ehrlich's »Die Anämie« hat die Diskussion und die neuen Fragestellungen erst ermöglicht, so dass selbst derjenige, der einzelne Punkte der Ehrlich'schen Lehren zu bekämpfen scheint, doch vollständig als Epigone auf Ehrlich's Schultern steht.

Es ist wahrscheinlich, dass wie im Blut auch in anderen Organen sich Zellen mit differenter Funktion und Morphologie finden und vereinzelte Beobachtungen sind auch an Drüsen, vor allem am Pankreas, gemacht worden. Doch fehlen bis jetzt die geeigneten Methoden zum Nachweis.

Es lag eigentlich sehr nahe, die Methoden der Bluthistologie auf die Ergüsse der serösen Häute zu übertragen, um auf diese Weise vielleicht zu neuen Resultaten zu kommen. Es ist schwer zu erklären, warum derartige Untersuchungen bis in die neueste Zeit hinein nicht angestellt worden sind. Man begnügte sich meist mit der Betrachtung des ungefärbten, frischen Präparates und färbte im besten Fall mit Löffler's Methylenblau, einzelne Untersucher verwendeten die Hämatoxylin Eosinmethode und die Safraninfärbung. Ehrlich [1]) benutzte in einigen Fällen sein Triacidgemisch und entdeckte dabei die sogenannten Pseudolymphocyten.

Man sieht schon aus diesem kurzen historischen Exkurs, dass systematische Untersuchungen [23]) bisher nicht vorhanden waren. Das Hauptbestreben bei der Untersuchung der Exsudate ging dahin, Bacillen nachzuweisen oder

intra vitam einen anatomischen Befund im Exsudate zu erheben, welcher die Diagnose »Pleurakarcinom« zu stellen erlaubte. So wichtig diese Bestrebungen an sich sind, muss doch darauf hingewiesen werden, ein wie seltenes Vorkommniss die Karcinose der serösen Häute gegenüber der grossen Zahl der anderen Ergüsse darstellt. Auf die Bacillenbefunde und ihre Bewerthung soll noch später eingegangen werden.

Daneben wurden spitzfindige Untersuchungen angestellt, welche Ergüsse als hämorrhagisch angesehen werden dürften; Dieulafoy [4]) schlug die Zählung der rothen Blutkörperchen vor und nahm die Zahl 4000 als Grenze zwischen hämorrhagischem und nicht hämorrhagischem Erguss an.

Die Untersuchung der Ergüsse mit den feineren hämatologischen Methoden bietet einige technische Schwierigkeiten. Diese können in einzelnen Fällen so gross werden, dass sie sich nicht überwinden lassen. Ein Misserfolg in einzelnen Fällen berechtigt daher nicht, über den Werth der Methode zu urtheilen. Der theoretische und praktische Werth derartiger Bestrebungen kann natürlich nur nach den erfolgreichen Untersuchungen bemessen werden. Bei einiger Uebung kommt man überdies fast stets zu einem Resultat.

In der Hämatologie arbeitet man mit lebensfrischen, dem Körper soeben entnommenen Zellen, welche noch dazu durch die Antrocknungsmethode in kapillarer Schicht in unübertrefflicher Weise konservirt werden. Nie hat man es mit stark degenerirten Zellen zu thun, da das Zugrundegehen der Blutzellen sich an Stellen ausserhalb der Blutbahn abspielt. Die Zellen der Exsudate dagegen befinden sich oft seit Wochen ausserhalb der Blutbahn, allen Einflüssen der Diffusion etc. preisgegeben. Will man selbst annehmen, dass der Aufenthalt in dem Exsudat ihre Vitalität ungeschädigt lässt, so erfolgt doch ihr physiologischer Zelltod statt in Milz etc. im Exsudat selbst. Es hat sich herausgestellt [5]), dass die im Exsudat befindlichen Zellen nicht, wie man früher annahm, fettig degeneriren und dann der Resorption verfallen, so dass man alle Zelltrümmer im Exsudat selbst noch antrifft, zum Theil frei, zum Theil in phagocytäre Epithelien (Phagothelien [6]) eingeschlossen.

Da nun die Granula, speciell die neutrophilen, das feinste bisher bekannte morphologische Kriterium für die Integrität eines Leukocyten bilden, deren Darstellung durch geringe Abweichungen vom Optimum der Fixation z. B. schon unmöglich gemacht wird, wird es wohl leicht erklärlich sein, warum bei Exsudaten die Darstellung der Granula, besonders der neutrophilen, oft nicht gelingt.

Es ist also leicht verständlich, dass die Granula, welche im Blut die Differenzirung der einzelnen Elemente erleichtern und zur Unterscheidung der einzelnen Zellarten geführt haben, in Exsudaten nicht mehr nachweisbar sein können, und dass wir von ihnen in vielen Fällen abstrahiren müssen, wenn wir die Exsudatzellen einem bestimmten Zelltypus zutheilen wollen.

Wie schon erwähnt, sind die neutrophilen Granula, die schon im Blute der Darstellung die verhältnissmässig grösste Schwierigkeit entgegensetzen, in Exsudaten häufig nicht mehr färberisch darstellbar. Nachdem wir den Typus der neutrophilen Zellen im Blute kennen gelernt haben, wäre dies an sich kein grosser Nachtheil, da ja das Kennzeichen der polymorphen (polynukleären) Kerne die Zelle leicht identificiren lässt; doch erhalten sich die Kerne der polynukleären Leukocyten in Exsudaten nicht unversehrt. Es sind hier zwei verschiedene Processe zu unterscheiden.

Bei dem einen, häufigeren, quellen die Kerne auf und erwecken dann den Eindruck der Einkernigkeit, so dass sich das Bild dem der Lymphocyten sehr nähert. Ein in der Mitte beim Drehen der Mikrometerschraube erkennbares Kernloch weist uns darauf hin, dass wir es in Wirklichkeit mit einer ursprüng-

lich polynukleären Zelle mit polymorphem Kernstab zu thun haben.

Der andere Vorgang ist seltener, aber schon von Ehrlich beobachtet. Der Kernstab zerfällt in einzelne runde Kugeln; diese Theilung des Kernstabes führt im weiteren Verlauf zur Theilung der Zelle. Um jeden Theil des ursprünglichen Kernes ordnet sich ein verschieden grosser Protoplasmaleib an. Ehrlich hat diese Zellen zuerst in einem Fall von Exsudat bei puerperaler Sepsis beobachtet und sie Pseudolymphocyten genannt.

Der Beweis. dass sie von polynukleären neutrophilen Zellen abstammen, wird dadurch geführt, dass sie erstens bisweilen noch neutrophile Granula führen, obwohl sie einkernige Zellen darstellen, zweitens, dass man in Zellen mit polymorphem Kernstab beobachten kann, wie der polymorphe Zellstab sich theilt, die Zelle in Wahrheit polynukleär wird und 3, 4. auch 5 Kernkugeln enthält.

Die Pseudolymphocyten bieten Gelegenheit zu Verwechslungen:

1. Mit Lymphocyten. Dazu veranlasst der runde Kern, der von einem koncentrisch gelagerten Protoplasmasaum umgeben ist. In den meisten Fällen sichert die Breite des Protoplasmasaumes vor Verwechslungen. Es kann sich jedoch ein so geringer Theil Protoplasma um den Kern befinden. dass morphologisch die Differenzirung schwer fällt. Nun finden sich aber die Pseudolymphocyten, wie aus ihrer Entstehung verständlich wird, hauptsächlich in Exsudaten mit polynukleärem Typus, so dass durch sie der Charakter des Exsudates nicht missdeutet werden kann, besonders da nur vereinzelte Zellen wirklich zu Verwechslungen Anlass geben können. Es ist dann in Zweifelsfällen noch darauf zu achten, ob die betreffenden Zellen etwa neutrophile Granula enthalten. und ferner ist von Bedeutung, wie sie sich der Pappenheim'schen Methylgrün-Pyroninfärbung gegenüber verhalten (siehe weiter unten). Bei dieser Methode nimmt das Protoplasma der Pseudolymphocyten nur einen leicht-rosa Ton an.

2. Mit kernhaltigen rothen Blutkörperchen. In den zahlreichen Fällen, wo die Pseudolymphocyten keine neutrophilen Granula enthalten, sind diese Zellen kernhaltigen Erythrocyten wohl ausserordentlich ähnlich, doch sind bis jetzt in keinem Exsudate kernhaltige rothe Zellen beobachtet worden. so dass aus theoretischen Gründen die Differentialdiagnose nicht gestellt zu werden braucht. Doch schreibt Widal: On trouve même parfois quelques globules rouges à noyau.

Die eosinophilen Zellen sind in Exsudaten selten. Sie sind von Widal[4]) in einem Fall von Typhusexsudat beschrieben worden. Jedoch bieten die eosinophilen Granula Gelegenheit. auf eine bemerkenswerthe Eigenthümlichkeit der Zellen in pleuritischen Exsudaten einzugehen: Die sicherste Methode. eosinophile Granula zu färben, besteht bekanntlich in der Eosinglycerinmethode, bei der die eosinophilen Granula eine sehr distinkte Färbung annehmen. In pleuritischen Exsudaten zeigt das Protoplasma der polynukleären Zellen sehr häufig eine degenerative Veränderung derart, dass es auch im Eosinglyceringemisch mit grosser Lebhaftigkeit das Eosin an sich zieht, so dass bei Exsudatzellen ein aus der diffusen Rothfärbung des Protoplasmas gezogener Schluss auf eosinophile Zellen als irrig zu betrachten ist.

Mastzellen sind ein seltener Befund in pleuritischen Exsudaten. Sie sind jedoch von mir in einem Falle in grosser Zahl (circa 10 % sämmtlicher Leukocyten) beobachtet worden.[7]) Es ist darauf hinzuweisen, dass in dem betreffenden Falle die Mastzellen ausserordentlich wasserlöslich waren und infolge dessen mit der Ehrlich'schen Dahlialösung und überhaupt mit wässerigen Farblösungen nicht darstellbar waren. Ihre Darstellung

gelang in $50^0/_0$iger alkoholischer Lösung (Methylenblau, Kresylviolett, Thionin), am schönsten mit Thionin. Sie zeigten alle für Mastzellen charakteristischen Eigenschaften (vor allem Metachromasie) (cfr. Artikel Metachromasie).

Die Lymphocyten und grossen mononukleären Zellen sind nach EHRLICH durch ihre Granulalosigkeit ausgezeichnet und im Blute ermöglicht dieser principielle Unterschied ausserordentlich die Unterscheidung. (Die neuen Befunde [8]) über Granula in Lymphocyten ändern an diesem wichtigen differential-diagnostischen Merkmal nichts, weil die Granula der Lymphocyten mit andern nicht verwechselt werden können und ausserdem bisher nur mit einer einzigen Methode, der ROMANOWSKY'schen, darstellbar sind.) Wie schon auseinandergesetzt, fällt in den Exsudaten die Diagnose mittels der Granula in den meisten Fällen fort. So kommt es, dass die Lymphocytendiagnose in Exsudaten oft nicht leicht ist. Zu dieser Schwierigkeit trägt, wie schon erwähnt, noch viel bei, dass die polynukleären Zellen durch Kernaufquellung und Kernverdichtung (Karyorhexis und Karyolysis, Pyknose) häufig den Anschein einer mononukleären Zelle erwecken.

Es ist, wie nachher noch kurz erwähnt werden soll, bei den Exsudaten gerade von besonderer Wichtigkeit, die Lymphocyten von den polynukleären Zellen zu unterscheiden, weil hieraus wichtige diagnostische Schlüsse abgeleitet werden können. Hierzu ist es nöthig, meist mehrere der weiter unten zu erwähnenden Methoden anzuwenden, weil diese es dann meist sehr erleichtern, ein Urtheil über den Charakter des Exsudates zu gewinnen. Besonders wichtig ist hier die Methylgrün-Pyroninmethode und die Thioninfärbung.

Die in neuerer Zeit bei hämatologischen Arbeiten so beliebte EHRLICH-sche Triacidfärbung ist bei pleuritischen Exsudaten nur in beschränktem Masse mit Vortheil anwendbar, und zwar dann, wenn es sich darum handelt, den Versuch einer Darstellung der neutrophilen Granula zu machen, der ja bisweilen von Erfolg gekrönt ist. Sonst ist ihre Anwendung nicht zu rathen, weil bei der geringen Intensität der Kernfärbung die Lymphocyten von aufgequollenen polynukleären Zellen beim Fehlen des differenzirenden Merkmals der neutrophilen Granula sehr schwer zu unterscheiden sind.

Ein kleiner Kunstgriff, den man nicht vernachlässigen sollte, kann die Differentialdiagnose der einzelnen Zelltypen sehr erleichtern. Man kann auch in Blutpräparaten die Erfahrung machen, dass an Stellen, wo die Blutkörperchen dicht zusammenliegen, die einzelnen Leukocyten kleiner erscheinen wie an Stellen, wo die Präparate tadellos sind. Es liegt dies daran, dass an den dünnen Stellen die Leukocyten sich gut ausgebreitet haben, während an den dickeren Stellen die Leukocyten vor der Fixation durch das Austrocknen Zeit hatten, ihren kugeligen Kontraktionszustand zu gewinnen. Man thut deshalb gut, nicht etwa einen Tropfen des Exsudates auf dem Deckgläschen im Laufe einer Stunde antrocknen zu lassen, sondern die Exsudatpräparate genau nach Analogie der Blutpräparate in kapillarer Schicht, die sofortiges Antrocknen garantirt, anzufertigen.

Eine wesentliche Rolle in den Exsudaten spielen noch die Epithelien. Sie entwickeln ausserordentliche phagocytäre Eigenschaften. Während es nun im allgemeinen leicht ist, einen Leukocyten von einer Epithelzelle zu unterscheiden, ist dies in pleuritischen Exsudaten häufig mit Schwierigkeiten verbunden. Bei der Phagocytose rückt nämlich der central gelegene Kern in excentrische Lage und man findet in der Epithelzelle Einschlüsse von Erythrocyten und Leukocyten, die jedoch nach einiger Zeit ihre morphologische Sonderstellung im Protoplasmaleib der Fresszelle verlieren und färberisch am fixirten Präparate nicht mehr nach-

gewiesen werden können. Ihr Nachweis gelingt nur durch die vitale Färbung (siehe weiter unten). Die Epithelien nehmen hierbei die abenteuerlichsten Gestalten an, wovon bei der Diagnose: Tumor der serösen Häute, speciell der Pleura, noch die Rede sein soll. Besonders leicht werden diese Epithelien mit den grossen mononukleären Zellen des Blutes (Ehrlich) verwechselt und Widal und die grosse Mehrzahl seiner Schüler spricht vom Befund von grossen mononukleären Zellen in Exsudaten. Der Nachweis des Polymorphismus der Epithelien in Exsudaten und die Beobachtung der Kernwanderung und der Phagocytose führen dazu, diese mononukleären Zellen als metamorphosirte Epithelien anzusprechen. Sie finden sich hauptsächlich in metapneumonischen und in rheumatischen Exsudaten. Widal hat darauf hingewiesen, dass diese Zellen bei der gewöhnlichen tuberkulösen Pleuritis gar nicht oder nur in geringer Zahl vorkommen.

In vielen Fällen wirkt der Eiweissgehalt des Exsudates dadurch störend, dass er eine intensive Färbung des Untergrundes bewirkt. Man thut daher gut, den Eiweissgehalt zu eliminiren, indem man das Exsudat centrifugirt und die ganze überstehende eiweissreiche Flüssigkeit weggiesst, physiologische Kochsalzlösung hinzufügt, den Bodensatz in ihr aufschwemmt, dann wieder centrifugirt und den Bodensatz auf Deckgläschen verarbeitet. Andererseits muss bei einer Reihe von Untersuchungen sorgfältig der Zusatz von Wasser vermieden werden. Infolgedessen thut man gut, einige Deckgläschen mit dem durch Centrifugiren gewonnenen Bodensatz des nicht vermischten Exsudates zu beschicken, denn will man z. B. die Jodreaktion der Leukocyten in Exsudaten prüfen, muss man Wasser fernhalten, weil die die Jodreaktion gebende Substanz (Kaminer [Ehrlich's Glykogen]) wasserlöslich ist. Fett ist zwar nicht wasserlöslich, doch thut man gut, auch beim Nachweis von Fett den gleichen Modus procedendi zu wählen, weil das Fett durch das viscöse Eiweiss festgehalten wird, während es im Wasser leicht ausgeschwemmt wird. Ferner finden sich, wie schon erwähnt, in den Exsudaten bisweilen wasserlösliche Mastzellen, bei deren Nachweis man natürlich ebenfalls den Zusatz von Wasser absolut vermeiden muss.

Der Nachweis von Jodreaktion im Blute geschieht dadurch, dass man das Präparat 5—10 Minuten den Dämpfen eines Jodkrystalls im Blockschälchen aussetzt und dann in dicker Lävulose oder in dickflüssigem Jodgummi aufbewahrt. Das Verfahren ist bei den Leukocyten der Exsudate dasselbe. Bei Anwendung von Jodgummi verstärkt sich die Reaktion anfangs noch, jedoch ist es zur Zeit nicht möglich, längere Zeit überdauernde Präparate zu gewinnen. In neuester Zeit habe ich wiederholt Leukriphen angetroffen, die eine Jodreaction erst nach zweistündigem Verweilen in Joddämpfen gaben.

Für den Nachweis von Fett sind ausser Osmiumsäure noch die neueren Methoden anzuwenden. (Sudan, Scharlach R, Alkanin; um Wiederholungen zu vermeiden, sei bezüglich der Technik auf den in diesem Werke sich findenden Aufsatz von L. Michaelis über »Fettfarbstoff« verwiesen.) Es sei hier nur erwähnt, dass das meiste in Exsudaten sich findende Fett mit Osmiumsäure nicht darstellbar ist; nach Starke's Untersuchungen[10]) kann es sich also nicht um Oleïne handeln; mit Osmiumsäure erhält man nur eine rauchgraue Färbung, nachträgliche Behandlung mit Alkohol ändert nichts an diesem Resultat. Einige Anzeichen deuten darauf hin, dass es sich um einen wachsähnlichen Körper handelt (cf. Berliner klin. Wochenschr., 1901, Nr. 45).

Betrachtet man ein ungefärbtes frisches Präparat eines Exsudates, so sieht man im mikroskopischen Bilde eine überaus grosse Anzahl von stark lichtbrechenden Körnchen. Dieser Befund hat infolge der Nichtanwendung

der specifischen Fettfärbemethoden bewirkt, dass allgemein angenommen wurde, die in pleuritischen Exsudaten sich findenden Zellen verfallen einer fettigen Degeneration und gelangen dann zur Resorption. Es ist bekannt, dass z. B. auch die eosinophilen Granula wegen ihres starken Lichtbrechungsvermögens früher für Fettkörnchen angesehen wurden, bis es sich dann herausstellte, dass es sich um Eiweisskörnchen handelte. In Exsudaten findet sich, von den Epithelien abgesehen, nur wenig Fett, und man wird zu der Annahme gedrängt, dass die im ungefärbten Präparate sichtbaren Körnchen ebenfalls Eiweisskörnchen darstellen. Diese Annahme gewinnt auch durch die Beobachtung sehr an Wahrscheinlichkeit, dass diese Einschlüsse vital färbbar sind und besonders zahlreich z. B. in experimentell erzeugten Aleuronatexsudaten vorkommen.

Es ist von Wichtigkeit, die Exsudate möglichst sofort nach der Punktion zu verarbeiten, um Gerinnungsprocesse auszuschliessen. Ist es aus äussern Gründen nicht möglich, dieses Postulat zu erfüllen, kann man versuchen, durch Zusatz von gerinnungshemmenden Substanzen, z. B. Natrium citricum, das Exsudat für eine spätere Untersuchung brauchbar zu erhalten. Widal schlägt vor, das Exsudat durch Schütteln mit Glasperlen zu defibriniren, oder aber sich ruhig ein Gerinnsel bilden zu lassen und dieses dann mit Glasperlen zu schütteln. Im Nothfall kann man natürlich dieses Verfahren verwenden; jedoch halte ich es im Princip nicht für empfehlenswerth, weil unsere Kenntnisse über die Gerinnungsvorgänge gegenwärtig noch zu lückenhaft sind, als dass man ausschliessen könnte, dass nicht bei diesem Vorgange leukocytäre Elemente zu Grunde gehen.

Es sollen nun die Methoden eine kurze Besprechung finden, die bei der Untersuchung der Exsudate die besten Resultate ergeben und, wie schon erwähnt, oft kombinirt werden müssen, um zu einem Ergebniss zu führen. Es giebt für Exsudate zur Zeit leider keine panoptische Methode: die Granula sind meist nicht mehr darstellbar; die Degenerationen bedingen zu ihrem Nachweis die Anwendung zahlreicher Methoden und die vielgestaltigen Epithelien bringen ein Element hinein, das dem Blutbild fremd ist.

Zur Untersuchung von Ergüssen geeignet erscheinen die folgenden Methoden:

1. Hämatoxylinfärbung, resp. kombinirte Hämatoxylin-Eosinfärbung. Noch heute stellt das Hämatoxylin eines der besten Mittel dar, Kernstrukturen zu erkennen und die Hämatoxylinfärbung mit und ohne Eosinfärbung giebt besonders schöne Bilder, wenn man den Polymorphismus der Epithelien sehen will. Es ist sehr zweckmässig, in Eosinglycerinlösung 12—24 Stunden zu färben. Zur Darstellung der eosinophilen Granula thut man gut, nach der Hämatoxylinfärbung die Präparate 12 Stunden in koncentrirter wässeriger Orange G-Lösung zu belassen und dann in dünner alkoholischer oder wässeriger Eosinlösung kurz ($^1/_4$—$^1/_2$ Minute) nachzufärben.

Bei Anwendung dieser Färbungen muss man sich hüten, Lymphocyten, deren Protoplasma sich oft intensiv roth färbt, und Pseudolymphocyten mit kernhaltigen Erythrocyten zu verwechseln.

2. Triacid Ehrlich. Es ist schon im Vorhergehenden besprochen worden, warum dem Ehrlich'schen Triacid bei der Untersuchung von Exsudaten nicht eine sehr grosse Bedeutung zukommt, und zwar infolge Fehlens der Granula in Exsudaten und wegen der zu wenig intensiven Kernfärbung der Mischung. Doch soll es in Anwendung gezogen werden, wenn man glaubt, Pseudolymphocyten gefunden zu haben: in einigen Fällen wird es dann gelingen, noch neutrophile Granula in den betreffenden Zellen nachzuweisen.

Methylenblau-Eosingemische.

Man kann bei der Untersuchung der Exsudate nicht darauf rechnen, ebenso schöne Bilder zu erhalten wie beim Blut. Jedoch gelingt es oft, sehr charakteristische Bilder zu erhalten.

1. Zeitlich getrennte Färbung. Hitzefixation oder Alkohol absol.-Fixation. Dann 1 Minute Färben in einer Lösung von Eosin 0,5 Grm., Alkohol 60% 100 Ccm., dann Abspülen und 1/2 Minute färben in einer Lösung Methylenblau B patent 1,0 Grm., Aqua destillata 150.0 Grm.

2. Das Eosin-Methylenblau-Acetongemisch von L. Michaelis. Das Princip der Methode beruht darin, dass durch Zusatz von Aceton und Alkohol die Umlagerung zwischen Methylenblau und Eosin verlangsamt wird. Man darf die Lösung nur so lange zum Färben benutzen, als noch keine Umlagerung der beiden Bestandtheile eingetreten ist. Man erkennt dies an der Bildung eines Niederschlages.

Man muss zwei Stammlösungen vorräthig halten, welche man, um die Einwirkung des vom Glasgefäss sich abspaltenden Alkalis auszuschliessen, in mit Paraffin ausgegossenen Gefässen hält.

a) 1. Stammlösung: Methylenblau medicin. Höchst (chlorzinkfrei) 0,5. Aqua destillata 50,0, Alkohol absol. 50,0.

b) 2. Stammlösung: Eosin 1% 12,0, Aceton 50,0.

Von beiden Lösungen gleiche Theile nehmen, im bedeckten Blockschälchen 1/4—1 Minute färben, bis das Deckgläschen beim Herausheben aus der Farbflüssigkeit röthlich angehaucht erscheint. Präparate mit vielen Leukocyten (Leukämie und Exsudate) vertragen meist 1/2—3/4 Minuten.

3. Die Romanowsky'sche Färbung stellt in ausserordentlich schöner Weise die Kernstrukturen der Epithelien dar; ausserdem gelingt es bisweilen, das Protoplasma der Lymphocyten himmelblau zu färben.

Man braucht wieder zwei Stammlösungen:

a) 200 Ccm. einer 1%igen Methylenblaulösung werden mit 10 Ccm. einer 1/10 normal Natronlauge 1/4 Stunde lang gekocht und nach dem Erkalten mit 10 Ccm. einer 1/10 normal Schwefelsäure genau neutralisirt. (Die Lösung ist bei Grübler und E. Leitz als »Azurblau« käuflich, doch leicht selbst herstellbar.)*

b) Eine wässerige Eosinlösung 1 : 1000. Zur Färbung mischt man 1 Ccm. von Lösung *a)* mit 6 Ccm. von Lösung *b)*, schüttelt ordentlich durch und färbt das 1/2—1 Stunde in Alkohol absol. fixirte Präparat in diesem Gemisch 1/4—1/2 Stunde. Dann spüle man das Präparat an der Wasserleitung in kräftigem Strahl.

4. Pyronin-Methylgrün (Pappenheim). Das Pyronin-Methylgrüngemisch ist von Pappenheim hauptsächlich empfohlen worden, weil es eine specifische Färbung der Lymphocyten darstellen sollte und man infolge der Rothfärbung des Protoplasmas diese von allen anderen Zellen sicher unterscheiden könnte. Wie schon erwähnt, trifft dies nicht zu; trotzdem ist die Färbung aber eine äusserst gut verwendbare. Nach Pappenheim's Angabe soll man 3—4 Theile koncentrirter Methylgrünlösung und 1—2 Theile koncentrirter Pyroninlösung nehmen, jedoch schlägt er in einer neueren Publikation vor, die Lösung jedesmal frisch zu bereiten und 3 Theile Methylgrün und 1 Theil Pyronin auf ein Reagensglas zu nehmen und dieses bis 1/4 aufzufüllen.

Man wird gut thun, in jedem einzelnen Falle die günstigen Mischungsverhältnisse wieder auszuprobiren.

* Neuerdings stellen die Höchster Farbwerke chemisch reines Methylenazur her (1 Grm. = 15 M.). Für theoretische Untersuchungen von höchstem Werth liefert für praktische Untersuchungen die oben angegebene, billige Methode ausgezeichnete Bilder, nur ist es absolut nothwendig, dass das Methylenblau kein Chlorzink enthält.

5. Thionin, Kresylviolett-Methylenblau. Es sind dies einfache Färbungen, jedoch ist z. B. Thionin besonders geeignet, in vielen Fällen die Lymphocytendiagnose zu erleichtern. Wie schon erwähnt, sind die Farbstoffe unersetzlich, in alkoholischer Lösung wasserlösliche Mastzellen darzustellen.

6. Löffler und andere bakteriologische Methoden. Es bestehen bei Exsudaten keine Unterschiede gegenüber den sonst üblichen Methoden und soll deshalb hier nicht näher darauf eingegangen werden. Es sei nur erwähnt, dass Breuer [11]) zum Nachweis der Tuberkelbacillen in Exsudaten nicht, wie bisher üblich, centrifugirt, sondern räth, sich ein spinnwebartiges Gerinnsel bilden zu lassen und in diesem den Nachweis der Tuberkelbacillen mit den gewöhnlichen Methoden zu führen.

7. Fettfärbungen. Die modernen Fettfärbungen mit Sudan-, Scharlach-R und Alkanin haben den grossen Vorzug, dass sie gleichzeitig eine gute Kernfärbung erlauben; da sie aber nicht wie Osmiumsäure mit dem Fett eine chemische Verbindung eingehen, ist es nie möglich, die Färbungen an eingebetteten Präparaten anzuwenden, da auch noch das mit Scharlach gefärbte Fett sich in Alkohol löst. Aus dem gleichen Grunde muss man die Präparate in Glycerin oder Lävulose einbetten, da sich auch das gefärbte Fett durch das in dem Kanadabalsam enthaltene Chloroform löst; denn die neueren Fettfarbstoffe färben das Fett nur physikalisch, ohne es chemisch zu verändern. Zum Nachfärben der Kerne eignet sich besonders Hämatoxylin.

8. Jodreaktion. Lassen die bisher angewandten Methoden noch Zweifel, welcher Zellart die einzelnen morphologischen Bestandtheile zuzurechnen sind, so kann in vielen Fällen die Jodreaktion noch werthvolle Fingerzeige geben, da sie häufig in degenerirten Zellen die Kerne plastisch hervortreten lässt und auf diese Weise die Diagnose eines polynukleären Leukocyten ermöglicht.

Anhangsweise ist noch die vitale Färbung zu erwähnen. Sie ist bekanntlich von Ehrlich in die histologische Technik eingeführt und hat bisher hauptsächlich dazu gedient, feinere Details in der Nervenhistologie aufzudecken. In Exsudaten kann sie erstens dazu verwendet werden, phagocytär aufgenommene Elemente in Leukocyten und besonders in Epithelien darzustellen, wobei noch besonders gut das von Plato [12]) empfohlene Neutralroth verwerthbar ist; ausserdem gelang mit Hilfe der vitalen Färbungen der Mastzellennachweis [7]) in einem pleuritischen Exsudat. Man kann die Farblösung dem Exsudat zusetzen, bequemer aber ist es, wie Nakanishi sie angegeben hat, Deckgläschen in dünner Schicht mit den betreffenden Farbstoffen zu beziehen. Die Präparate müssen vor der Austrocknung durch Umranden mit Vaseline oder Paraffin geschützt werden. Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch in Zukunft, wie auch die neuen Untersuchungen von Rosin zeigen, die vitale Färbung, wie überhaupt in der Hämatologie, so auch bei der Untersuchung pleuritischer Exsudate eine bedeutende Rolle spielen wird.

Die bakteriologische Untersuchung der Exsudate hat im allgemeinen nach den üblichen Regeln zu erfolgen, nur ist zu bedenken, dass alle Exsudate die Tendenz haben, auch wenn sie ursprünglich durch Bakterien hervorgerufen wurden, nach einiger Zeit bakterienfrei zu werden. Der Beweis dafür ist, dass, wenn man ein Exsudat von Zeit zu Zeit untersucht, man anfangs morphologisch intakte wachsthumsfähige Bakterien in den Exsudaten findet. Nach einiger Zeit sieht man Bakterien, die morphologisch verändert, nicht mehr wachsthumsfähig sind. Etwas später kann man beobachten, dass diese Bakterien in Leukocyten eingeschlossen sind, und schliesslich sind sie überhaupt nicht mehr nachweisbar. Unter diesen Umständen ist der Schluss, dass bakterienfreie Exsudate tuberkulöser Natur sein müssen, in dieser Allgemeinheit nicht mehr richtig.

da leicht nachzuweisen ist, dass ein Exsudat jeder Aetiologie bakterienfrei werden kann. Will man die in Exsudaten sich findenden Bakterien züchten, wird man die baktericide Kraft des Exsudats in Rechnung ziehen müssen und durch Anwendung von Verdünnungen sie möglichst auszuschalten suchen; deshalb sollte man es nicht unterlassen, eine Bouillonkultur anzulegen, ebenso sollte man stets eine Stichkultur anlegen, um die Anaerobien, welche sich ziemlich häufig in Exsudaten finden, aufzufinden, da diese sich dem Nachweis sonst leicht entziehen.

Die Untersuchung der Exsudate ist, wie man aus dem Mitgetheilten ersehen wird, nicht immer als ganz leicht zu bezeichnen, wenn auch die Schwierigkeiten, die hier eben alle angeführt wurden, nicht immer sämmtlich zu überwinden sind, und es meist gelingt, in Bezug auf den morphologischen Charakter des Exsudats zu einem Ergebniss zu kommen. Die Frage liegt nahe, zu welchem Zweck man alle diese Untersuchungen anstellt, denn die morphologische Untersuchung erlaubt ja nicht einmal mit Sicherheit, Transsudate von Exsudaten zu unterscheiden. Doch reichen alle anderen bisher bekannten Methoden zu dieser Untersuchung ebenfalls nicht aus, da sowohl Exsudate wie Transsudate sehr häufig gerade um die als Grenzwerth angegebene Zahl des specifischen Gewichts von 1018 schwanken.

Die Angabe, dass Exsudate sauer, Transsudate alkalisch reagiren, ist auch nicht richtig, da z. B. bei Phenolphtaleïn als Indikator sowohl Exsudate wie Transsudate sauer reagiren *, während bei Anwendung von Lackmus als Indikator auch sichere Exsudate alkalische Reaktion geben.

Ursprünglich glaubte ich[13]), dass entsprechend der von Ehrlich eingeführten Unterscheidung zwischen aktiver und passiver Leukocytose die Lymphocytenergüsse den Transsudaten würden zugerechnet werden können, während die polynukleären Ergüsse den Exsudaten zuzutheilen wären; es hat sich jedoch gezeigt, dass man diese Annahme fallen lassen muss, und dass man auch die Lymphocytenergüsse durch aktive Auswanderung der Lymphocyten[12]) zu erklären genöthigt war. Wenn auch diese Unterscheidung fallen gelassen werden musste, ergab sich doch aus der morphologischen Untersuchung der Ergüsse eine wichtige diagnostische Verwerthung; es hat sich gezeigt, und in diesem Punkt stimmen alle bisher erschienenen Arbeiten überein, dass, wenigstens soweit es die Pleura betrifft, die Lymphocytenergüsse tuberkulöser Natur sind. Die anderen Ergüsse von einander zu unterscheiden, bereitet zur Zeit noch Schwierigkeiten, jedoch war es am nothwendigsten für die klinische und therapeutische Verwerthung, die chronischen, d. i. fast stets tuberkulösen Ergüsse von den akut-infektiösen zu trennen und in dieser Beziehung ist wohl eine sichere Unterscheidung jetzt möglich.

Bei den meningitischen Flüssigkeiten sind von französischer Seite dieselben Angaben gemacht, jedoch sind sie nicht ohne Widerspruch geblieben und die Beurtheilung der Werthigkeit des Lymphocytennachweises in meningitischen Flüssigkeiten wird noch dadurch erschwert, dass nachgewiesenermassen bei verschiedenen chronischen Gehirnkrankheiten ebenfalls Lymphocytenergüsse vorkommen.

Die Ascitesflüssigkeiten sind bis jetzt noch zu wenig durchforscht, als dass es bisher möglich wäre, auf die morphologische Untersuchung hin Schlüsse ziehen zu dürfen.

---

* Transsudate ergeben meist Aciditätswerthe unter 10.

Da die Befunde an Spinalflüssigkeiten deutlich zeigten, dass die Lymphocytenauswanderung keinen für die Tuberkulose specifischen Vorgang darstellt, habe ich schon an anderer Stelle darauf hingewiesen (Fortschritte der Medicin, 1902), dass wir bei der Pleura bisher nur keinen anderen Process kennen, der zur Lymphocytenexsudatbildung führt. Ganz neuerdings hat H. STRAUSS (Charité-Annalen, 1902) ein Lymphocytenexsudat gefunden, dessen Träger auf diagnostische Tuberkulininjektion nicht reagirte. Es liegt hier also die Wahrscheinlichkeit vor, dass das betreffende Lymphocytenexsudat nicht tuberkulöser Natur ist; die morphologische Untersuchung erlaubt hier einen Schluss auf eine bisher nicht bekannte Krankheitsform. Wie STRAUSS selbst hervorhebt, wird die diagnostische Bedeutung der morphologischen Untersuchung der Pleuraergüsse hierdurch nicht berührt, da es sich wahrscheinlich um sehr seltene Processe handelt. (Chronischer Lungentumor? Alte Blutung?)

Man glaubte früher, dem Befund zahlreicher Epithelien eine grosse Wichtigkeit für die Diagnose »Tumor der serösen Häute« zuschreiben zu dürfen. Wie sich bei fortgesetzten Untersuchungen sehr schnell ergiebt, nehmen die Epithelien, die in Exsudaten eine phagocytäre Funktion erfüllen, hierbei die abenteuerlichsten Gestalten ein, so dass dem Polymorphismus und der Zahl der Epithelien kein diagnostischer Werth zugesprochen werden kann.

QUINCKE (Archiv f. klin. Med., Bd. 16, pag. 121 und Bd. 30, pag. 580) glaubt, dass die Glykogen-(resp. nach KAMINER die Jod-)Reaktion der Epithelien differentialdiagnostischen Werth für die Karcinomdiagnose besitze, da die Endothelien gewöhnlich frei von Glykogen seien. Wenn auch diese letzte Behauptung zutrifft, habe ich doch zweimal in Epithelien Jodreaktion angetroffen in Fällen, wo es sich sicher nicht um Tumorbildung handelte. Es wird also dieses Merkmal mit Vorsicht benutzt werden müssen.

RIEDER weist bei Tumorbildung der serösen Häute (Sarkom) auf die zahlreichen Mitosen der Exsudatepithelien hin, welche häufig atypisch sind. Auf die Kerntheilung folgt keine Zelltheilung, die Chromosomen sind kurz und nicht polar oder äquatorial angeordnet. Es ist möglich, dass diesem Moment eine Bedeutung zukommt, da in Nicht-Tumorexsudaten nie Mitosen der Epithelien gefunden wurden.

Die chemische Untersuchung der Ergüsse soll, als ausser den Rahmen dieses Werkes fallend, hier nicht besprochen werden. Die chemische Untersuchung ist weitaus mühsamer als die morphologische, die Resultate geben meist nur so geringe Aufschlüsse, dass sie die aufgewendete Mühe nicht lohnen. Für die klinische Untersuchung genügt in den meisten Fällen die Untersuchung auf Eiweiss mittels des ESSBACH'schen Albumimeters, wobei die zu untersuchende Flüssigkeit 5—8mal verdünnt werden muss; ferner die Anstellung der TROMMER'schen und NYLANDER'schen Zuckerprobe an der enteiweissten Flüssigkeit. Ob der Diazoprobe ein diagnostischer Werth zukommt, müssen erst noch weitere Untersuchungen ergeben; die mühsame Bestimmung des Gefrierpunktes (Kryoskopie) hat bisher bei den Ergüssen keine klinisch verwerthbaren Thatsachen ergeben.

Wenn wir die Resultate der Exsudatuntersuchungen noch einmal kurz zusammenfassen, gelingt es, die akut infektiösen Ergüsse von den chronischen zu trennen. Von theoretischer Bedeutung sind die Aufschlüsse, die wir über die Leukocytose, speciell die Lymphocytose durch das Studium der Exsudate erhalten haben; von Interesse ist ferner die von den Epithelien ausgeübte Phagocytose, die Erfahrungen über das Zugrundegehen der Bakterien in Exsudaten, die Beobachtung des Fortschreitens von Zelldegenerationen und die Betrachtung der

vitalen Färbungsverhältnisse, das Uebergehen einer polynukleären in eine mononukleäre Exsudatsform, wie man dies bei tuberkulösen Ergüssen oft zu beobachten Gelegenheit hat.*

Bei den pleuritischen Ergüssen erlaubt der Befund von 50 % und mehr Lymphocyten, die Diagnose auf Tuberkulose zu stellen. Es ist zu hoffen, dass die weiter fortgeführten Untersuchungen bei spinalen und Ascitesflüssigkeiten noch theoretisch und praktisch wichtige Aufschlüsse liefern werden.

Litteratur: 1) Ehrlich (Charité-Annalen, 1882), 2) Quincke (Deutsch. Arch. klin. Med., 1882), 3) Grawitz (Charité-Annalen, 1893), 4) cit. Widal & Ravaut (Compt. rend. Soc. Biol., 1900), 5) Wolff (Berl. klin. Woch., 1901), 6) derselbe (ebenda, 1902, Nr. 6), 7) derselbe (Münch. med. Woch., 1902), 8) derselbe (Virchow's Arch., Bd. 167, 1902), 9) derselbe (Fort. Med., 1902, Sammelreferat), 10) Starke (Arch. Phys., 1895), 11) Breuer (Wien. klin. Rundschau, 1901), 12) Plato (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1901), 13) Wolff (Zeit. klin. Med., 1901), 14) derselbe (Deutsch. Aerzte-Zeit., 1901).

Alfred Wolff, Königsberg.

* Die Untersuchung von Gelenkergüssen etc. wird in gleicher Weise vorgenommen. In Kantharidenblasen findet man, so lange sie nicht vereitert sind, nur wenige morphotische Elemente, und zwar polynukleäre neutrophile Leukocyten. Zu einem bestimmten Zeitpunkt pflegen zahlreiche eosinophile Zellen in der Blase zu sein. Der Befund ist der gleiche bei Blutgesunden, bei Phthisikern, Leukämikern etc. In Miliariabläschen und bei Erythema exsudativum multiforme findet man nach L. Michaelis (Münch. med. Wochenschr., 1902, Nr. 6) äusserst wasserempfindliche Mastzellen. In Varicellenbläschen sieht man vakuolisirte polynukleäre Leukocyten und Pseudolymphocyten, dazu Zelltrümmer, welche leicht für Parasiten gehalten werden können.

F.

Faeces. Es kann nicht Aufgabe dieses Kapitels sein, alles das anzuführen, was über die mikroskopische Untersuchung der Faeces bekannt ist. So muss vor allem Abstand genommen werden von einer genaueren Wiedergabe oder selbst nur einer Aufzählung der normalerweise und in pathologischen Verhältnissen mikroskopisch zu findenden Bestandtheile der Faeces. Eine solche Aufzählung würde dem Zwecke dieser Encyklopädie widersprechen. In dieser Hinsicht muss auf die verschiedenen monographischen Bearbeitungen der Darmkrankheiten verwiesen werden, besonders aber auf das ausführliche Werk von SCHMIDT und STRASBURGER.

Nur einige allgemeine Bemerkungen über die Technik der mikroskopischen Untersuchung der Faeces sind hier am Platze. Diese Technik ist eine so einfache, so leicht zu erlernende, dass es eigentlich recht wunderbar erscheint, wenn von so vielen Aerzten eine mikroskopische Untersuchung des Stuhlganges gescheut wird. Für die meisten Fälle genügt es durchaus, mit einem Glasstabe oder noch besser mit einem Holzstabe, den man nach der Verwendung wegwerfen kann, einen kleinen Theil des zu untersuchenden Stuhlganges in nicht zu dünner Auflagerung auf einem Objektträger auszubreiten, und zwar in der Weise, dass eine möglichst grosse Partie des Objektträgers bedeckt wird. Dann untersucht man, ohne mit einem Deckglase zu bedecken, zunächst mit schwacher, eventuell noch mit stärkerer Vergrösserung. Unter Umständen wird es dann natürlich noch nöthig sein, wenn man auf die Untersuchung irgend einer besonderen Stelle sein Augenmerk zu richten gezwungen ist, das Präparat mit einem Deckglase zu bedecken, und die stärksten Vergrösserungen anzuwenden. Für die meisten, praktisch in Betracht kommenden Fälle genügt aber, wie gesagt, die Anwendung schwächerer Objektive.

Handelt es sich um besonders dünnflüssige Faeces, so thut man gut, die Centrifuge zu Hilfe zu nehmen, nach dem Centrifugiren die oberen Partien der im Centrifugirröhrchen vertheilten Massen wegzugiessen und die unteren zu untersuchen.

Eine besondere Färbung ist fast stets unnöthig. Unter Umständen kann es sich darum handeln, ob man es mit Schleim zu thun hat oder nicht. Dann wird mit Thionin untersucht, worüber im einzelnen im Kapitel über Schleimfärbung nachzulesen ist. Hier nur der Hinweis, dass man natürlich auch in diesem Falle frisch, d. h. ohne weitere Vorbehandlung der zu untersuchenden Probe untersucht. Dasselbe gilt von der Untersuchung auf Stärkekörner, bei der man das zu untersuchende Theilchen zunächst am besten in LUGOL'scher Lösung zerdrückt oder verreibt und dann erst auf den Objektträger bringt (ROSENHEIM). Man benutzt eine etwas verdünnte

Lösung der gewöhnlichen LUGOL'schen Mischung. (Näheres siehe unter Jod, dort auch über den Nachweis der Cellulose.) Für die Untersuchung auf Fettsubstanzen gelten die allgemeinen Principien, die an einer anderen Stelle dieses Buches auseinandergesetzt worden sind. Es handelt sich um Neutralfett, Fettsäuren und Seifen. Nur sei daran erinnert, dass die Fettsäurekrystalle — im Gegensatz zu den Fettsäureschollen — sich nicht mit den üblichen Fettfärbemitteln färben, ebensowenig die Seifen.

Wenn eine besondere Untersuchung auf Blut nothwendig wird, so bedient man sich der TEICHMANN'schen Probe. STRZYSOWSKI hat für den Nachweis des Blutes in den Faeces eine besondere Modifikation angegeben. Die am schwärzesten gefärbten Partien der Faeces werden mit einem Tropfen einer Natriumjodidlösung (1 : 500) und koncentrirter Essigsäure gekocht. Die dann entstehenden Häminkrystalle sind dunkler als die gewöhnlichen gefärbt.

Für die Untersuchung auf thierische und pflanzliche Parasiten gelten die allgemeinen, anderwärts besprochenen Regeln.

Litteratur: Die verschiedenen Lehr- und Handbücher der Darmkrankheiten. Im besonderen sind zu erwähnen: VAN LEDDEN-HULSEBROCH (Makro- und mikroskopische Diagnostik der menschlichen Exkremente, 1899), SCHMIDT und STRASBURGER (Die Faeces des Menschen, I. Theil: Die makroskopische und mikroskopische Untersuchung der Faeces, 1901). Ferner: STRZYSOWSKI (Therapeutische Monatshefte, 1901).

Mosse, Berlin.

Färbung. Als Färbung bezeichnet man denjenigen Vorgang, bei welchem ein an sich ungefärbter oder wenig gefärbter Körper durch Behandlung mit der Lösung eines Farbstoffes (s. Anilinfarbstoffe) von diesem letzteren so durchdrungen wird, dass er nach Beendigung des Verfahrens eine andere und tiefere Farbe zeigt, als sie ihm von Haus aus eigen war.

Als zu färbende Materialien kommen in erster Linie die Textilfasern in Betracht, für welche in jahrtausendelanger Uebung die verschiedenartigsten Färbeverfahren ausgebildet worden sind, welche vorbildlich sind für die Färbung irgend welcher anderen Substanzen. Die bei den Textilfasern obwaltende Mannigfaltigkeit der Form und chemischen Zusammensetzung bewirkt es, dass in ihrer Färberei so ziemlich jede nur mögliche Färbemethode zur Anwendung kommen kann. In der Textilindustrie unterscheidet man scharf zwischen Färberei und Druckerei, bei der Färberei wird der Gesammtmasse des behandelten Fasermaterials eine gleichmässige Färbung gegeben, die Druckerei ist eine lokalisirte Färbung, bei welcher durch geeignete Kunstgriffe bestimmte Theile des behandelten Materials gefärbt, andere ungefärbt gelassen oder in einer anderen Farbe gefärbt werden. Die theoretischen Grundlagen der Färberei und des Druckes sind identisch. Bezüglich der Methoden, durch welche die Effekte der Druckerei erreicht werden, siehe weiter unten.

Geschichte der Färberei. Die Färberei ist ein uraltes Gewerbe, dessen Anfänge in vorgeschichtliche Zeiten zurückreichen und auch bei solchen Völkern sich finden, welche jetzt noch im Naturzustande existiren. Da fast alle Textilfasern mit nur wenigen Ausnahmen weiss oder in blassen, wenig ausgesprochenen Tönen gefärbt sind, so führen Schönheitssinn und Streben nach Zweckmässigkeit in gleicher Weise zur Färbung der Materialien für die Bekleidung des Menschen. Alle alten Kulturvölker haben hervorragende und vielfach originelle Leistungen auf dem Gebiete der Färberei zuwege gebracht. Die ältesten Angaben über Färberei oder gefärbte Stoffe finden sich in der Mahabharata, in den geschichtlichen Werken der Chinesen (welche die Erfindung der Färberei dem Begründer der Seidenindustrie, dem Kaiser Hoang-Ti, 2650 v. Chr. zuschreiben) und im Herodot. Bei den Azteken und Inkas fanden die Spanier eine hochentwickelte, an originellen Methoden reiche Färbekunst. Bei den Aegyptern blühte schon zu Herodot's Zeiten die Krappfärberei. Bekannt ist ferner die Kunstfertigkeit der Phönikier in der Purpur-

färberei, welche später nach Griechenland und Rom verpflanzt wurde. Nach neueren Untersuchungen war die Purpurfärberei der Indigofärberei sehr nahe verwandt. Die alten Germanen und Britannier bedienten sich des aus Waid gewonnenen Indigos, mit welchem sie gelegentlich auch die eigene Haut färbten, geradeso wie jetzt noch bei Naturvölkern eine Färbung der lebenden Haut vielfach vorkommt.

Im Mittelalter erfolgte die Weiterbildung der Färberei zunächst in Byzanz. Sie wurde von hier nach Venedig und dem übrigen Italien verpflanzt und entwickelte sich in späterer Zeit auch in Frankreich. Etwas später erfolgte die Ausgestaltung der Färberei in den mitteleuropäischen Ländern, Deutschland, den Niederlanden und England. Die Färbematerialien wurden fortwährend vermehrt, theils durch die Feststellung färberischer Eigenschaften bei Naturprodukten, welche früher der Färbung nicht gedient hatten, theils durch den Import neuer Färbematerialien aus entlegenen Produktionsländern. In dieser Weise erhielt die europäische Färbekunst nacheinander den Kermes, die Orseille, das Roth- und Blauholz, den Indigo und die Kochenille als besonders wichtige Färbematerialien neben vielen anderen von geringerer Bedeutung. Eine besonders reiche Ausbeute lieferte in dieser Hinsicht vom 16. Jahrhundert an das neuentdeckte Amerika. Die Einführung der künstlichen synthetischen Theerfarbstoffe hat vom Jahre 1860 an eine weitere durchgreifende Umgestaltung der Färbekunst herbeigeführt und gleichzeitig auch die wissenschaftliche Erklärung der auf rein empirischem Wege gefundenen und vielfach höchst verwickelten Färbeprocesse erleichtert.

Wesen des Färbeprocesses. Man kann zwischen Färbung im strengeren Sinne des Wortes und Pigmentirung unterscheiden. Bei der letzteren wird lediglich ein intensiv gefärbter unlöslicher Körper durch Klebstoff auf der Faser oder dadurch, dass man ihn sich im Innern der Faser bilden lässt, in derselben waschecht befestigt. Bei der eigentlichen Färbung wird die Faser in das sogenannte Färbebad, eine in der Mehrzahl der Fälle wässerige Lösung eines wirklichen Farbstoffes, hineingebracht, wobei sie der Lösung den Farbstoff entzieht und ihn dauernd festhält, so dass selbst nachträgliches Waschen mit dem im Färbebade verwandten Lösungsmittel ihn nicht wieder von der Faser zu entfernen vermag. Solche Färbungen, welche lediglich durch die Wechselwirkung des Farbstoffes und der Faser im Färbebade zustande kommen, bezeichnet man als »substantive Färbungen«. Ihnen gegenüber stehen die »adjektiven Färbungen«, welche als ein Mittelding zwischen der eigentlichen Färbung und der Pigmentirung aufgefasst werden können. Auch bei dieser Art der Färbung wird die Faser in das Färbebad eingeführt, in welchem der Farbstoff gelöst ist, aber für das Zustandekommen der Färbung ist die Mithilfe eines dritten Körpers erforderlich, welcher in den meisten Fällen vorher der Faser einverleibt, weniger häufig mit dem Farbstoff dem Färbebade zugesetzt wird. Dieser dritte Körper, welcher die Färbung erst vermittelt, wird nach uraltem Sprachgebrauch als »Beize« bezeichnet. Da sich in den meisten Fällen nachweisen lässt, dass die Wirkung der Beize darauf beruht, dass sie mit dem Farbstoff unlösliche, tiefgefärbte Verbindungen, sogenannte Lacke, zu bilden vermag, so läuft das Endresultat der adjektiven Färbungen auf dasselbe hinaus wie die Pigmentirung, d. h. darauf, dass der Lack, weil er unlöslich und gleichzeitig im Innern der Faser abgelagert ist, durch Waschmittel nicht mehr von der Faser entfernt werden kann. Ein besonderer Fall der adjektiven Färbung ist derjenige, wo ein substantiver Farbstoff als Beize für einen in einem zweiten Färbungsprocess anzuwendenden adjektiven dient, indem er sich mit diesem zu einem unlöslichen, intensiv gefärbten Körper zu vereinigen vermag. Färbeverfahren, welche auf diese Erscheinung sich stützen, sind namentlich in neuerer Zeit mehrfach bekannt geworden. Man

hat in früherer Zeit ziemlich scharf zwischen substantiven und adjektiven Farbstoffen zu unterscheiden versucht, ein genaueres Studium der Farbstoffe sowohl wie der Färbeprocesse hat gezeigt, dass eine derartige Unterscheidung sich nicht durchführen lässt, weil die Natur des Färbeprocesses ebenso sehr von der Faser, wie von dem Farbstoff abhängt. Es giebt keinen Farbstoff, der sich nicht für gewisse Fasern als substantiv erweisen liesse. Die allermeisten Farbstoffe sind substantiv für gewisse Fasern, während ihre Anwendung auf andere Fasern die Benutzung adjektiver Färbemethoden verlangt. Die meisten Farbstoffe, welche ihrer Natur nach zu der Klasse der Sulfosäuren gehören, sind für adjektive Färbungen wenig geeignet, weil sie nicht imstande sind, mit irgend welchen bekannten Beizen völlig wasserunlösliche Lacke zu liefern. Mit ihnen hergestellte adjektive Färbungen würden daher bei andauernder Einwirkung von Wasser allmählig ausgelaugt werden, was unvereinbar mit der für jede Färbung in erster Linie zu stellenden Forderung der Waschechtheit ist. Indessen hat die Färberei sich auch diese Erscheinung zu Nutze gemacht, indem sie die wasserlöslichen Lacke von Farbstoffen aus der Klasse der Sulfosäuren ihrerseits als substantive Farbstoffe verwendet. Ein solches Verfahren bildet gewissermassen die Umkehrung der adjektiven Färbung, bei welcher die Lackbildung der Färbung vorausgeht. Der Werth derartiger Methoden beruht auf dem Umstande, dass in sehr vielen Fällen die Lacke der Farbstoffe ganz anders gefärbt sind als die Farbstoffe selbst. Alle derartigen Färbeverfahren sind neueren Datums, sie beschränken sich auf die Farbstoffklassen der Oxyketone (Sulfosäuren der Alizarinfarbstoffe) und Chinonoxime (Sulfosäuren der Nitrosophenole).

Während die Pigmentirung irgend welcher Erklärung kaum bedarf, da der sich abspielende Vorgang in dem angewandten Verfahren selbst klar zu Tage liegt, während ein Gleiches auch für die adjektive Färbung gilt, bei welcher nur die chemische Erklärung der Lackbildung unter Umständen auf Schwierigkeiten stösst, ist der Vorgang der substantiven Färbung ausserordentlich schwierig zu erklären und seit mehr als einem halben Jahrhundert der Gegenstand spekulativer Betrachtungen und experimenteller Untersuchungen. Bis zum Jahre 1890 unterschied man im wesentlichen zwei einander scharf gegenüberstehende Theorien der Färbung, nämlich die sogenannte chemische und die mechanische. Die chemische Theorie des Färbeprocesses nimmt an, dass zwischen der Substanz der Faser und der Substanz des Farbstoffes eine chemische Verbindung zustande komme, welche in Wasser unlöslich sei. Es soll also überall da, wo eine substantive Färbung sich abspielt, die Substanz der Faser die Rolle einer Beize übernehmen, gleichzeitig aber auch den Träger des aus ihr und dem Farbstoffe entstehenden Lackes bilden. Den gegen diese Theorie zu erhebenden Einwand, dass in einer fertigen substantiven Färbung stöchiometrische Proportionen zwischen der Menge des angewandten Farbstoffes und der Menge der vorhandenen Faser offenbar nicht existiren, kann man mit Leichtigkeit dadurch entkräften, dass man sagt, es würde in der praktischen Durchführung des Färbeprocesses niemals die Gesammtmenge der angewandten Faser durch Vereinigung mit dem Farbstoff zu einem Lack verbraucht, sondern man inhibirt den Färbeprocess eben dann, wenn durch Entstehung einer genügenden Menge von Lack die gewünschte Intensität der Färbung erreicht sei. Dem lässt sich entgegen halten, dass auch lediglich zum Zwecke des Versuches bis zu dem Punkte durchgeführte Färbungen, wo die Faser keinen Farbstoff mehr aufnimmt, keinerlei einfache Molekularverhältnisse zwischen Faser und Farbstoff erkennen lassen. Da die meisten Farbstoffe ein höheres Molekulargewicht besitzen als die in den Spinnfasern vorkommenden Substanzen, so müssten sich, wenn die sogenannte chemische Theorie des Färbeprocesses richtig wäre, Färbungen erhalten lassen, bei welchen die Menge des Farb-

stoffes mehr als die Hälfte oder doch wenigstens einen sehr grossen Bruchtheil des Gesammtgewichtes der gefärbten Faser ausmacht. Das ist aber nicht der Fall, sondern für die allermeisten Farbstoffe kommt der Färbeprocess schon bei einer Farbstoffaufnahme von höchstens 5% zu Ende, bei vielen noch viel früher. Die meisten in der Praxis hergestellten. rein substantiven Färbungen enthalten nicht mehr als 2—3% Farbstoff. Die sogenannten beschwerten Färbungen, wie sie in der Seidenfärberei vorkommen, verdanken nachweislich die Gewichtszunahme beim Färbeprocess der Aufnahme anderer Substanzen durch die Faser, welche mit dem Färbeprocess selbst nichts zu thun haben. Der eben erwähnte schwerwiegende Einwurf gegen die chemische Theorie der Färbung ist von den Anhängern derselben und speciell von E. Knecht nur für den Specialfall der Wollfärbung mit einigem Erfolg bekämpft worden. Knecht stützt sich auf die bekannte Thatsache, dass Wolle durch hydrolytische Agentien und auch schon durch reines Wasser allmählig zersetzt wird, wobei sie in Amidosäuren der Fettreihe zerfällt. Das erste Zersetzungsprodukt der Wolle ist eine derartige Säure von noch unaufgeklärter Konstitution, die sogenannte Lanugininsäure. Indem nun Knecht nachwies, dass diese letztere mit der Mehrzahl der basischen Farbstoffe unlösliche Lacke liefere, stellte er die Hypothese auf, dass die Färbung der Wolle durch allmählige Zersetzung derselben zustande kommt, wobei die Lanugininsäure in dem Masse ihrer Bildung wechselnde Mengen von Farblacken erzeuge. Abgesehen davon, dass man auch hier die Forderung stellen muss, dass bei einer genügend langen Fortsetzung des Färbeprocesses die Wolle sich schliesslich ganz in Lanugininlack verwandeln müsste, würde die Knecht'sche Erklärung nicht ausreichen für das Verständniss der zahllosen, durch neuere Farbstoffe bewirkten substantiven Baumwollfärbungen. Ferner lässt uns diese Hypothese vollständig im Stich für die Erklärung der Erscheinung bei derjenigen Faser, welche mit fast allen Farbstoffen sich substantiv färben lässt, nämlich der Seide, für welche irgend welche Zersetzung selbst durch noch so lange fortgesetztes Kochen mit Wasser sich nicht hat nachweisen lassen.

Die sogenannte mechanische Theorie des Färbeprocesses. welche bis jetzt ebensowenig wie die chemische ihre sämmtlichen Anhänger verloren hat, kann als eine Theorie kaum bezeichnet werden, da sie es ganz und gar ablehnt. irgend welche Erklärungen über den Vorgang selbst zu geben, und in allem, was für sie bis jetzt vorgebracht worden ist, lediglich nur eine Umschreibung der zu erklärenden Thatsache bildet, dass eine Färbung zustande kommt. Die Anhänger der sogenannten mechanischen Theorie perhorresciren den Gedanken einer chemischen Wechselwirkung zwischen Faser und Farbstoff. Sie sagen, der Farbstoff würde von der Faser aufgenommen und festgehalten, ohne sich mit ihr irgendwie zu verbinden. gerade so, wie Farb- und Riechstoffe auch von Thierkohle aufgenommen und festgehalten würden. Da für die Wirkung der Thierkohle ebensowenig eine Erklärung bekannt ist wie für den Färbeprocess, so wird dieser letztere durch den stets aufs neue herangezogenen Vergleich mit der Thierkohle nicht im geringsten erklärt. In neuerer Zeit haben die Vertreter dieser Richtung sich in der Weise geholfen, dass sie für den räthselhaften Vorgang ein neues Wort geschaffen haben. welches indessen ebensowenig ein Verständniss anzubahnen imstande ist wie der Vergleich mit der Thierkohle. Dieses Wort ist die gemeinsame Bezeichnung des Färbeprocesses, der Thierkohlewirkung und vieler ähnlicher Erscheinungen als »Adsorption«. Der Begriff der Adsorption in dem Sinne der Molekularphysik ist bis jetzt nicht genügend definirt worden.

Im Jahre 1890 trat Otto N. Witt mit einer neuen Erklärung des Färbeprocesses auf, welche vielfach diskutirt worden ist und eine grosse

Anzahl von Anhängern gewonnen hat, da sie in ihrer Anwendung jedenfalls nicht so schwerwiegenden Bedenken begegnet wie die geschilderten älteren Anschauungen und ausserdem den Vorzug bietet, dass sie sich in gleichmässiger Weise auf alle substantiven Färbungen ohne Rücksicht auf die Substanz der Faser anwenden lässt. Die Theorie kann als »Lösungstheorie« bezeichnet werden, sie fasst den Färbeprocess als einen chemischen Vorgang auf und sieht in der gefärbten Substanz eine chemische Verbindung, jedoch nicht nach den Molekularverhältnissen. sondern nach schwankenden Verhältnissen, genau so wie sie beim Zustandekommen irgend welcher Lösungen obwalten. Die gefärbte Faser wird als starre Lösung des Farbstoffes in der Substanz der Faser charakterisirt und vollständig in Parallele gestellt mit gefärbten Gläsern und anderen Objekten, für welche die Natur als starre Lösungen anerkannt ist. Es mag indessen hier sogleich erwähnt werden, dass die Betrachtung der Faser als starre Lösung zeitlich etwa zusammenfällt mit der Einführung des Begriffes der starren Lösung in die physikalische Chemie oder eher der Einführung dieses Begriffes noch etwas vorauseilt.

Im Sinne der Witt'schen Lösungstheorie spielt sich der Process der substantiven Färbung in nachfolgender Weise ab: Der Farbstoff wird der Faser in Form einer wässerigen Lösung dargeboten, die Substanzen aller bekannten Fasern sind Kolloide; sie sind daher imstande, Lösungen zu bilden. Zwischen der Faser und der Lösung des Färbebades beginnt im Augenblick der Berührung das Spiel der Osmose. Durch dialytische Wirkung werden fortwährend Moleküle des Farbstoffes in das Innere der Faser getragen. In allen Fällen nun, wo die Löslichkeit des Farbstoffes in Wasser und in der Substanz der Faser annähernd die gleiche ist, wird sich bald ein Gleichgewicht zwischen Faser und Farbbad einstellen, bei welchem ein gegebenes Volum der Faser etwa dieselbe Menge von Farbstoff enthält wie das gleiche Volum des Färbebades. Sobald dieses Gleichgewicht erreicht ist, wandern fortdauernd ungefähr ebenso viele Moleküle des Farbstoffes aus der Faser in das Färbebad wie aus dem Färbebad in die Faser. In einem solchen Falle wird irgend welche Intensität der Färbung nicht erreicht werden können. Die aus dem Färbebad herausgenommene und mit Wasser leicht abgespülte Faser wird eine blasse Färbung zeigen, welche aber bei andauerndem Verweilen in reinem, namentlich in fliessendem Wasser vollkommen verschwinden wird. Ganz anders gestalten sich die Verhältnisse, wenn die Löslichkeit des Farbstoffes in der Substanz der Faser erheblich grösser ist als seine Löslichkeit in dem Wasser des Farbbades. In diesem Falle werden naturgemäss stets weniger Moleküle Farbstoff aus der Faser ins Bad als aus dem Bade in die Faser wandern. Das Resultat ist eine fortdauernde und der Zeit proportionale Zunahme der Intensität der Färbung der Faser im Vergleich zur Intensität der Färbung des Bades. Ist die Löslichkeitsdifferenz ausserordentlich gross, so kann schliesslich auch die Menge des von der Faser aufgenommenen Farbstoffes im Vergleich zu der Menge des in dem Bade zurückgebliebenen unendlich gross werden. In diesem Falle sagt der Färber, der Farbstoff »ziehe aus dem Bade vollständig aus«. Ganz analog dem Grade des Ausziehens ist die Waschechtheit der Faser, d. h. ihr Verhalten bei dem auf das Färben folgenden Waschen mit reinem Wasser. Es giebt kaum irgend welche vollkommen substantive Färbung, welche bei andauerndem Waschen mit Wasser nicht etwas »blutet«, d. h. ein wenig von dem vorhandenen Farbstoff an das Wasser wieder abgiebt. Aber bei sehr waschechten Färbungen ist die Menge des an das Waschwasser abgegebenen Farbstoffes ausserordentlich klein, weil eben die Löslichkeitsdifferenz zwischen Faser und Wasser ausserordentlich gross ist.

Die Erklärung des Färbeprocesses als Lösungserscheinung stösst bei vielen Personen auf die Schwierigkeit, sich an den Begriff der starren Lösung

zu gewöhnen, was sehr natürlich ist, da dieser Begriff ein neu geschaffener ist. Als vermittelnde Brücke ist von dem Urheber der Lösungstheorie der Vergleich mit der Theorie der Ausschüttelung herangezogen worden, bei welcher zwei mit einander nicht mischbare Lösungsmittel (z. B. Wasser und Aether) um den Besitz einer in beiden löslichen Substanz (z. B. Resorcin) kämpfen. Auch bei diesem Processe tritt, lediglich durch osmotische Wirkung, ein Gleichgewichtszustand ein, welcher die gelöste Substanz zwischen beiden Lösungsmitteln, proportional ihrer verschiedenen Löslichkeit in derselben und proportional dem Mengenverhältniss der beiden Lösungsmittel vertheilt. Es ist zur Genüge bekannt, dass auch bei der Ausschüttelung die in beiden Lösungsmitteln lösliche Substanz selten vollständig nur in ein Lösungsmittel übergeht. Durch Wiederholung der Ausschüttelung mit immer neuen Mengen desjenigen Lösungsmittels, in welchem die gelöste Substanz leichter löslich ist, kann schliesslich die Menge der in dem anderen Lösungsmittel zurückbleibenden gelösten Substanz unendlich klein gemacht werden. Im völlig gleichen Sinne pflegt der Färber die Färbebäder, welche zur Herstellung einer Färbung bereits gedient haben, mit neuen Mengen zu färbender Faser zu beschicken, um ihnen den von der ersten Färbung noch unvermeidlich anhaftenden Farbstoff möglichst vollständig zu entziehen. Sehr häufig wird sogar noch ein dritter oder vierter »Nachzug« veranstaltet. Bei Farbstoffen, welche nicht gut ausziehen, d. h. deren Löslichkeit in der Faser nicht sehr viel grösser ist als im Wasser des Färbebades, wird aus dem gleichen Grunde das Färbebad sogar fortdauernd weiter benutzt und immer nur durch Ersatz des verdampfenden Wassers und des von der Faser aufgenommenen Farbstoffes auf die ursprüngliche Koncentration gebracht.

Die Lösungstheorie des Färbungsprocesses erklärt namentlich auch eine Erscheinung, welcher die anderen über den Färbeprocess aufgestellten Theorien vollständig rathlos gegenüber stehen, nämlich das ungleich rasche Aufgehen des Farbstoffes aus dem Färbebade auf die Faser. Farbstoffe, bei denen die Löslichkeitsdifferenz zwischen Faser und Färbebad sehr gross ist, ziehen ausserordentlich rasch aus. Dies kann unter Umständen so rasch geschehen, dass der Färber nicht die Zeit hat, die Faser in allen ihren Theilen mit dem Färbebad gleichmässig in Berührung zu bringen. Bei solchen Farbstoffen, welche, wie der Färber sich ausdrückt, auf die Faser »anfallen«, werden die von dem Färbebade zuerst bespülten Theile der Faser dunkler gefärbt als die anderen, und es hält schwer, eine gleichmässige Färbung zu erzielen. Das in ihrer verschiedenen Löslichkeit in der Substanz der Faser bedingte ungleich rasche Auffärben verschiedener Farbstoffe macht es nothwendig, grosse Vorsicht beim Färben mit Farbstoffgemischen anzuwenden. Beispielsweise wird nicht jegliches Gemisch aus einem rothen und einem blauen Farbstoff die Faser violett färben, sondern wenn der rothe Farbstoff rascher aufzieht als der blaue, so wird die erzielte Färbung zunächst roth erscheinen und erst bei längerem Verweilen im Färbebade durch nachträgliche Aufnahme des blauen Farbstoffes violett werden. Veranstaltet man mit einem solchen Färbebade einen oder mehrere Nachzüge, so wird jeder folgende Zug eine andere Nuance besitzen als der vorhergehende. Bei der Vermengung einer grösseren Zahl von Farbstoffen werden sich ähnliche, nur noch komplicirtere Erscheinungen einstellen. Der Färber darf daher zur Erzielung gleichmässiger Färbungen nur solche Farbstoffe aus gemischtem Färbebade auffärben, für welche ein annähernd gleiches Färbevermögen erfahrungsgemäss besteht. Färbungen mit mehreren verschiedenen Farbstoffen von verschiedenem Färbevermögen werden zweckmässig nicht in einem und demselben, sondern in mehreren auf einander folgenden Färbebädern vorgenommen, von denen jedes nur einen der zu benutzenden Farbstoffe enthält. Da aber bei solchen aufeinander folgenden Färbebädern die

gefärbte Faser immer mit dem Farbstoff der vorhergehenden Bäder »blutet«, so ist auch dieser Thatsache Rechnung zu tragen. Aus derartigen Verhältnissen ergeben sich Schwierigkeiten, welche der Färber dadurch zu überwinden pflegt, dass er fast immer »auf Nuance färbt«, d. h. er hat während der Ausführung der Färbung eine kleine Probe fertig gefärbter Faser zur Hand, mit welcher er durch fortwährende Vergleichung der noch im Entstehen begriffenen Färbung die Ausgestaltung derselben kontrollirt. Die Erzielung bestimmter Mischfärbungen durch Zusammenmengen von Farbstoffen nach gegebenen Gewichtsverhältnissen wird äusserst selten durchgeführt, weil die geschilderten Erscheinungen es unmöglich machen, die Farbstoffe in demselben Verhältniss auf die Faser zu fixiren, in welchem sie im Färbebade zusammengemischt wurden. Aus demselben Grunde hat sich die Einführung von fertigen Gemischen verschiedener Farbstoffe in den Handel nur selten bewährt.

Gerade so wie verschiedene Farbstoffe ein und derselben Faser gegenüber in der substantiven Färbung eine verschieden grosse Affinität beweisen, verhalten sich auch verschiedene Fasern einem und demselben Farbstoff gegenüber, selbst in dem Falle, wo beide befähigt sind, sich mit dem betreffenden Farbstoff substantiv anzufärben. Bringt man in ein nur einen Farbstoff enthaltendes Färbebad gleichzeitig Wolle und Baumwolle, Wolle und Seide, Seide und Baumwolle oder gar mehrere verschiedene Fasern, so färben sich dieselben verschieden rasch an und erscheinen daher nach Beendigung des Färbeprocesses verschieden dunkel gefärbt. Dieser Umstand wird um so wichtiger, je mehr die Textilindustrie sich in der Herstellung aus verschiedenen Faserstoffen gemischter Gewebe vervollkommnet. Atlasse, Plüsche und andere verschiedenseitige Gewebe werden mehr und mehr in der Weise gefertigt, dass die Schauseite fast ganz aus der kostbareren Faser, z. B. Seide oder Wolle gebildet wird, während die nicht in Erscheinung tretende Unterseite, welche nur zur Erzielung des Griffes, der Dicke und Dauerhaftigkeit des Gewebes bestimmt ist, aus billigerer, aber festerer Baumwollen- oder Leinenfaser besteht. Das Durchschimmern der Unterseite durch die Schauseite ist nicht merklich, so lange beide Fasern im hellen Naturzustande vorliegen, wenn aber bei der Färbung durch selektive Farbstoffaufnahme die beiden Fasern eine ganz verschiedene Nuance annehmen, so kann dieses Durchschimmern sehr störend werden. Die Erörterung der Kunstgriffe, durch welche derartige Uebelstände im praktischen Färbereibetriebe vermieden werden können, würde hier zu weit führen. Uebrigens lässt sich die selektive Farbstoffabsorption zur Erzielung hübscher mehrfarbiger Effekte ausnützen. Färbt man z. B. ein aus Baumwolle und Wolle hergestelltes gemustertes Gewebe in einem Gemisch zweier substantiver Farbstoffe, von denen der eine wesentlich nur auf Baumwolle, der andere direkt wesentlich nur auf Wolle zieht, so erscheint die fertige Färbung in den zwei Nuancen der beiden gemischt angewendeten Farbstoffe und das Muster, welches in ungefärbten Zustande kaum bemerkbar war, tritt in glänzende Erscheinung.

Die selektive Färbung ist von Robert Koch, Paul Ehrlich u. a. in der mikroskopischen Färbetechnik in sinnreicher Weise und mit höchst werthvollen Resultaten ausgenutzt worden, indem dieselben histologische und andere mikroskopische Präparate, in welchen die verschiedenen Gewebselemente ein verschiedenes Färbevermögen besitzen, in Farbstoffen anfärbten und nachträglich wieder auswuschen. Durch die von vornherein auftretende verschieden starke Färbung und das beim nachträglichen Waschen ungleich starke Bluten erscheinen in dem fertigen Präparat die verschiedenen Elemente desselben ungleich stark gefärbt. Die mit einem sehr starken Färbevermögen begabten Bakterien sind auf diese Weise in vielen Fällen über-

haupt erst erkennbar gemacht worden. Das ungleich starke Färbungsvermögen verschiedener Farbstoffe für verschiedene Gewebselemente ist in der Weise verwerthet worden, dass mikroskopische Präparate in den Gemischen von färberisch möglichst ungleichartigen Farbstoffen gefärbt wurden, wobei sich ein mehrfarbiges mikroskopisches Bild ergab.

Die Lösungtheorie erklärt befriedigend auch die Thatsache, dass Färbebäder durch geeignete Zusätze, welche sich in der schliesslich erzielten Färbung gar nicht wiederfinden, in ihrem Verhalten der Faser gegenüber ganz ausserordentlich beeinflusst werden können. In erster Linie kommen dabei solche Zusätze in Betracht, welche nach dem Gesetz der Aussalzung die Löslichkeit des Farbstoffes in dem Färbebade wesentlich beeinflussen. Es ist üblich und in vielen Fällen unbedingt nothwendig, Farbstoffen, welche aus den Natriumsalzen von Sulfosäuren bestehen, behufs besserer Ausnutzung des Färbebades andere mehr oder weniger stark aussalzende Natriumsalze, wie Kochsalz, Glaubersalz, Natriumphosphat, Borax u. dergl. m., beizumengen. Aus dem gleichen Grunde werden Farbbädern, welche mit den Chloriden basischer Farbstoffe angesetzt werden, andere ebenfalls aussalzend wirkende Chloride, wie z. B. Kochsalz, Chlorzink u. dergl. beigegeben. Im umgekehrten Sinne, d. h. die Löslichkeit des Farbstoffes im Bade vergrössernd und dadurch den Process verlangsamend (was namentlich bei Farbstoffen, welche den Fehler des »Anfallens« haben, von Wichtigkeit ist) wirken andere Zusätze, wie Alkohol und Glycerin. In der mikroskopischen Färbetechnik wird auf Veranlassung von Paul Ehrlich ein Zusatz von Anilin zu den Tinktionsflüssigkeiten mit grossem Vortheil verwendet. Von besonderer Wichtigkeit sind die dem gleichen Zweck dienenden, aber in der Art ihrer Wirkung eigenartigen Zusätze, welche die Seidenfärberei verwendet, um das Anfallen der Farbstoffe zu vermeiden, welches bei ihr infolge der ausserordentlich grossen Färbefähigkeit der Seide besonders gefährlich ist. Diese Zusätze bestehen in löslichen Proteïnkörpern, welche den Farbstoff in lockerer chemischer Bindung im Färbebade zu halten scheinen, aus der er nur allmählich freigemacht und in dem Masse seines Freiwerdens auf die Seidenfaser übertragen wird. Der wichtigste Zusatz dieser Art ist die beim Entschälen der Rohseide selbst gewonnene Bastseife, welche mit Schwefelsäure bis zur sauren Reaktion versetzt und dann mit dem Namen »Gebrochene Seife« bezeichnet den Färbebädern in wechselnder Menge zugesetzt wird. In Ermanglung genügender Mengen von gebrochener Seife werden mit Schwefelsäure angesäuerte Lösungen von Tischlerleim benutzt.

Ganz allgemein kann man sagen, dass substantive Färbungen bei den aus Proteïnkörpern bestehenden Fasern gewöhnlich aus angesäuertem Bade vorgenommen werden, was bei der Wolle schon deshalb nothwendig ist, weil die durch Kochen mit reinem Wasser rasch erfolgende Schädigung der Wolle durch die Gegenwart von Säuren hintangehalten wird: Verschiedene Farbstoffe erfordern verschieden starke Zusätze an Säure, in den meisten Fällen wird Schwefelsäure zum Ansäuern des Bades benutzt. Nächst derselben ist bei säureempfindlichen Farbstoffen die gelinder wirkende Essigsäure von Wichtigkeit. Cellulosefasern, speciell Baumwolle, werden substantiv fast immer aus neutralen oder schwach alkalischen Bädern gefärbt, was schon deshalb Vortheile bietet, weil die Cellulose gegen alkalische Flüssigkeiten vollständig unempfindlich ist, während sie von Säuren leicht angegriffen wird. Bei Baumwollfärbungen, welche aus saurem Bade erfolgen müssen, wird mit Vorliebe Essigsäure zur Ansäuerung benutzt. Mehr oder weniger verholzte Pflanzenfasern (Hanf, Jute, Cocosfaser und viele andere) verhalten sich Farbstoffen gegenüber verschieden und stehen im allgemeinen in ihrem Benehmen in der Mitte zwischen den reinen Cellulosefasern und der Wolle.

Die adjektiven oder Beizenfärbungen sind, wie schon erwähnt, im grossen und ganzen als Pigmentirung aufzufassen, welche aber unter Zuhilfenahme von wirklichen Farbstoffen hergestellt wird, indem man diese im Innern der Faser in die möglichst unlöslichen Lacke überführt. Von der Widerstandsfähigkeit dieser Lacke gegen die lösende Wirkung des Wassers und gegen zersetzende Einflüsse verschiedener Reagentien hängt die Echtheit der so erzielten Färbungen ab.

Die angewandten Beizen sind sehr mannigfaltig, und es können nur die wichtigsten derselben namentlich aufgeführt werden. Ihrer Wirkungsweise nach kann man die Beizen in solche unterscheiden, welche schon unlöslich in der Faser fixirt sind, wenn dieselbe dem Färbebade zugeführt wird, und solche, welche ebenso wie der Farbstoff selbst im Momente der Lackbildung noch im löslichen Zustande sich befinden. Die erstgenannte Sorte von Beizen ist die vollkommenere, denn bei ihr beschränkt sich der osmotische Vorgang des Färbens lediglich auf eine Einwanderung der Farbstoffmoleküle in das Innere der Faser, wo dieselben sofort von der unlöslichen Beize festgehalten werden, während diese, eben weil sie unlöslich ist, nicht aus der Faser heraus und in das Färbebad gelangen kann. Bei der Verwendung der Beizen dagegen, welche im Momente der Lackbildung noch löslich sind, findet eine doppelte Osmose statt. Während nämlich Farbstoffmoküle in die Faser einwandern und dort mit einem Theil der Beize sich zu unlöslichem Pigment vereinigen, wandert ein anderer Antheil der Beize aus der Faser heraus in das Farbbad, wo sich der gleiche Vorgang vollzieht. Aber der hier gebildete Lack kommt der Faser nicht zugute, sondern scheidet sich als gefärbter werthloser Schlamm aus. Dies bedingt nicht nur einen Verlust an Beize und Farbstoff und damit eine unnöthige Vertheuerung der Färbung, sondern es hat noch den weiteren Uebelstand, dass eine gewisse Menge dieses feinen Schlammes sich rein mechanisch auf der Oberfläche der Faser absetzt, diese scheinbar tiefer färbt, dabei aber nur so locker mit ihr verbunden ist, dass blosse Reibung eine Trennung beider Theile bewirkt. Derartige Färbungen sind, wie der Färber sich ausdrückt, nicht »reibecht«. Die Prüfung auf diese Art der Echtheit erfolgt durch starbes Reiben der fertigen trockenen Färbung gegen ein Blatt weissen Papiers oder ungefärbter Leinwand. Eine tadellos reibechte Färbung darf bei dieser Probe keinerlei farbige Spur hinterlassen. Die Bildung schlammiger Lackniederschläge in den Färbeküfen kann auch bei löslichen Beizen durch allerlei Kunstgriffe verringert werden. Am wichtigsten ist bei solchen Färbungen die richtige Regulirung der Koncentration des Färbebades, wobei derjenige Zustand gesucht werden muss, bei welchem die Einwanderung des Farbstoffes in die Faser möglichst rasch erfolgt, jedoch ohne dass dabei ein fleckiges Anfallen der Färbung stattfindet.

Eine andere Eintheilung der Beizen findet statt je nach der allgemeinen Natur der benutzten Farbstoffe. Basische Farbstoffe erfordern als Beizen Körper von saurem Charakter, welche mit ihnen unlösliche Salze zu bilden vermögen. Umgekehrt erfordern Farbstoffe von phenolischem Charakter für den gleichen Zweck Beizen von basischer Natur. Im grossen und ganzen kann man sagen, dass nur solche Farbstoffe für Beizenfärbungen verwandt werden, welche reine Aminbasen oder reine Phenole sind, während die in der Farbenindustrie so vielfach hergestellten Sulfosäuren von Farbstoffen nur für substantive Färbungen Anwendung finden. Der in der mangelnden Unlöslichkeit der meisten Derivate von Sulfosäuren liegende Grund dieser Thatsache ist bereits besprochen worden, desgleichen wurde erwähnt, dass die wasserlöslichen Lacke einzelner solcher Sulfosäuren ihrerseits als Farbstoffe benützt werden. Dies kann entweder in der Weise geschehen, dass der wasserlösliche Lack von vornherein als Farbstoff in den Handel ge-

bracht wird (wie es z. B. bei den Eisenlacken oder Sulfosäuren von Nitrosophenolen geschieht), oder dadurch, dass die lackbildende Substanz vor oder bei der Färbung der Faser einverleibt wird (so verfährt man bei den Sulfosäuren der Alizarinfarbstoffe in ihrer Anwendung auf Wolle und Seide). Im letzteren Falle vollzieht sich also eine substantive Färbung, trotzdem dass während des Färbeprocesses eine Beize benutzt wird.

Die wichtigsten Beizen für basische Farbstoffe sind die Gerbstoffe, und zwar hauptsächlich die Gruppe der eisenbläuenden Gerbsäuren. Da die basischen Farbstoffe ohne Ausnahme auf Wolle und Seide substantiv zu färben imstande sind, so sind ihre gerbsauren Lacke hauptsächlich für die Färberei der Baumwolle und anderer Cellulosefasern von Wichtigkeit. Es mag indessen hier erwähnt werden, dass Gerbsäure sich auch mit der Substanz der Seide chemisch zu vereinigen vermag, und dass den so entstehenden Verbindungen die Fähigkeit der substantiven Aufnahme basischer Farbstoffe fast ganz abhanden gekommen ist. Infolge dessen wird eine Vorpräparation mit Gerbsäure unter Umständen dann auf Seide vorgenommen, wenn man verhindern will, dass diese sich in Farbstofflösungen färbt. Es dient also hier der Gerbstoff gerade dem entgegengesetzten Zwecke wie in der Baumwollfärberei.

Als Gerbstoff verwendet man in der Färberei, wo der Preis es erlaubt, reines, aus Galläpfeln hergestelltes Tannin. Wo es auf Billigkeit ankommt, verwendet man statt desselben die Auszüge solcher Gerbmaterialien, welche möglichst hell gefärbt sind, wie z. B. Sumach, Galläpfel, Knoppern, Myrobalanen und Dividivi. Je dunklere Auszüge ein Gerbmaterial liefert, desto mehr ist seine Anwendung auf dunkle und trübe Färbungen beschränkt. Da alle Gerbstoffe in Wasser leicht lösliche Verbindungen sind, so haftet ihnen der eben erwähnte Uebelstand der doppelten Osmose im Färbebade an. Indessen ist es erwiesen, dass die Gerbstoffe sich der Cellulose gegenüber ähnlich verhalten, wie es substantive Farbstoffe thun, d. h. sie werden aus wässerigen Färbebädern von der Faser bis zu einem gewissen Grade ausgezogen und bei genügend langem Verweilen ist der Gerbstoffgehalt einer gebeizten Faser procentisch grösser als der Gerbstoffgehalt des benutzten Beizbades. Aber die Gerbstoffe gehören zu den Substanzen, welche unvollständig ausziehen, und es ist niemals möglich, ein Beizbad vollständig an Gerbstoff zu erschöpfen. Aus demselben Grunde blutet auch die Gerbstoffbeize stark in dem Färbebade, und es ist nicht möglich, die Farbschlammbildung in dem Färbebade ganz zu vermeiden. Um nun diesen Uebelstand zu beseitigen, pflegt man den von der Faser aufgenommenen Gerbstoff häufig vor der Färbung in ein unlösliches, aber zur Lackbildung noch hinneigendes Derivat zu verwandeln. Dies kann geschehen durch Eintauchen in die Lösung von anderen Substanzen, welche befähigt sind, mit den Gerbstoffen total unlösliche Niederschläge zu erzeugen. Am wichtigsten sind in dieser Hinsicht die Antimonverbindungen, welche in der Form wasserlöslicher Salze, wie Brechweinstein, Antimondoppeloxalaten und Doppelchlorüren zur Anwendung kommen. Die solchergestalt auf der Faser niedergeschlagenen Antimon-Tanninverbindungen bilden eine in Wasser völlig unlösliche und daher in Färbebädern ohne Trübung sich anfärbende Beize, deren Farblacke sogar der Wirkung warmer Seifenbäder einigermassen Widerstand leisten, was für Beizenfärbungen besonders wichtig ist. In der Druckerei der Baumwolle (siehe weiter unten) wird häufig zuerst der blosse Tanninlack des Farbstoffes auf der Faser erzeugt und diesem wird dann nachträglich durch eine Behandlung mit Antimonsalzlösung die gewünschte Echtheit und Widerstandsfähigkeit gegeben.

Weniger wichtig als die Gerbstoffbeizen sind andere in der Baumwollfärberei für basische Farbstoffe benutzte Beizungen. Erwähnt werden mag

das früher vielfach versuchte sogenannte »Animalisiren« der Baumwolle. bei welchem diese letztere mit Proteïnkörpern, wie Albumin, Leim, Kaseïn oder den Lösungen von Seidenabfällen in verschiedenen Agentien imprägnirt und nachträglich ausgefärbt wurde, wobei man annahm, dass die färbende Wirkung des Farbstoffes der Hauptsache nach dem Proteïnkörper gegenüber zur Geltung kam und dass die so erhaltene Proteïnfarbstoffverbindung als unlöslicher Farblack die Cellulosefaser imprägnirt. Da die Färbungen der Proteïnkörper durchaus nicht auf der Bildung unlöslicher chemischer Verbindungen beruhen (was durch die Lösungstheorie erklärt wird), so ist es nicht zu verwundern, dass das erwähnte »Animalisiren« der Baumwolle nicht immer, sondern nur dann zum Ziele führte, wenn der Proteïnkörper selbst durch geeignete Hilfsmittel in der Baumwolle unlöslich gemacht wurde. Dies geschah z. B. beim Albumin durch Koagulirung in der Hitze, beim Leim durch unlöslichmachende Zusätze, wie Chromsalze, Gerbstoffe und dergleichen. Fast alle auf Animalisirung der Baumwollfaser beruhenden Färbungen leiden an dem Uebelstande, dass die Faser durch die in ihr enthaltenen, im trockenen Zustande hornigen Proteïnkörper hart und borstig gemacht wird.

Eine andere Beize, deren ausgedehnte Verwendung in der Baumwollfärberei eine Erwähnung verdient, ist die sogenannte »Türkischrothölbeize«, die einzige, welche ohne Unterschied für basische und saure Farbstoffe Verwendung finden kann. In ihrer ursprünglichen Form ist diese Beizmethode als sogenannte »Weissbeize« mit dem Türkischrothverfahren aus dem Orient zu uns gekommen. Sie bestand darin, dass Olivenöl in Aschenlauge oder Sodalösung emulgirt und mit der entstandenen milchigen Lösung Baumwolle imprägnirt wurde, welche alsdann längere Zeit der Wirkung von Licht und Luft dargeboten wurde. Dieses Verfahren wurde sechs- bis achtmal wiederholt, die so präparirte Baumwolle wurde dann der weiteren Beizung mit Thonerdesalzen unterworfen, zeigte sich aber auch schon vor derselben geeignet zur Aufnahme und Fixirung der verschiedensten, namentlich auch basischen Farbstoffe. Die Weissbeize beruht auf einer allmählichen Verseifung und gleichzeitigen Oxydation des Oeles. Ihre Wirkung auf basische Farbstoffe dürfte hauptsächlich dem Vorhandensein von Oxystearinsäure, vielleicht auch Oxyölsäure auf der Faser zuzuschreiben sein. Da diese Säuren einigermassen den die Grundlagen der Gerbstoffe bildenden Oxybenzoesäuren vergleichbar sind, so erklärt sich ihre Fähigkeit, mit basischen Farbstoffen unlösliche Lacke zu bilden. Da die Weissbeize ausserordentlich umständlich ist und 8—10 Wochen in Anspruch nimmt, so hat man versucht, sie durch oxydirende Zusätze zu den Weissbädern, z. B. durch Zusatz von Terpentinöl, welches die Bildung von Wasserstoffsuperoxyd veranlasst, abzukürzen, was auch einigen Erfolg hatte. Heute verwendet man die Weissbeize überhaupt nicht mehr, sondern statt ihrer eine Behandlung mit dem in Wasser löslichen Türkischrothöl. Dieses letztere besteht im wesentlichen aus freier Ricinusölsäure, welche durch Verseifung von Ricinusöl mit Schwefelsäure erhalten wird und bekanntlich mit der Oxyölsäure isomer und ihr ähnlich konstituirt ist, woraus sich ihre gleichartige Wirkung erklärt. Die Türkischrothbeize hat die Eigenschaft, ausserordentlich feurige, dabei aber auch sehr lichtunechte Farblacke zu erzeugen. Der letztere Umstand ist der Grund dafür, dass man die Türkischrothbeize jetzt nie mehr für sich allein, sondern stets nur in Verbindung mit anderen Beizen anwendet, wobei diese letzteren die gewünschte Widerstandsfähigkeit gegen Licht hervorbringen, während gleichzeitig der der Türkischrothbeize eigene Glanz der Nuance zustande kommt.

Es mag endlich hier noch erwähnt werden, dass gewisse, auf Baumwolle substantiv färbende Farbstoffe aus der Familie der Azofarben, wie

z. B. Chrysamin, gleichzeitig als Beizen für basische Farbstoffe dienen können, wobei als endgiltige Färbung eine Mischnuance der beiden sich gegenseitig befestigenden Farbstoffe erhalten wird. Die Wirkung beruht in diesem Falle darauf, dass der substantiv färbende mit dem nachträglich aufgebrachten basischen Farbstoff eine in Wasser unlöslich gefärbte Verbindung, d. h. einen Lack, zu bilden vermag.

Von den Farbstoffen, welche einen phenolischen Charakter besitzen, sind nur diejenigen für adjektive Färbungen verwendbar, welche in Wasser völlig unlösliche Metalllacke zu bilden vermögen. Dies ist nicht der Fall bei allen Nitrophenolen und bei der Farbstoffgruppe des Aurins. Auch die Phtaleïne (Eosin und seine Verwandten) sind für Beizenfärbungen wenig geeignet, so weit sie nicht den sogleich für die beizenfärbenden sauren Farbstoffe zu erwähnenden Bedingungen entsprechen. Immerhin bilden sie unlösliche Bleilacke, welche gelegentlich Verwendung finden.

Für die Entstehung von Metallsalzen, welche in vollkommener Weise den Charakter der Farblacke besitzen, ist es nothwendig, dass sowohl von Seiten des Farbstoffes wie von Seiten der Beizen gewisse wohldefinirte Bedingungen erfüllt sind. Als Beizen können nur solche Metallhydroxyde oder basische Salze in Betracht kommen, welchen ein Sesquioxyd von der allgemeinen Formel Me_2O_3 zugrunde liegt. In erster Linie ist dabei an die Thonerde, das Eisenoxyd und Chromoxyd zu denken, aber auch andere Sesquioxyde zeigen sich regelmässig geeignet, als Beizen zu wirken, wie es am Berylliumoxyd und den seltenen Erden nachgewiesen worden ist. Mit den von derartigen Sesquioxyden sich ableitenden Beizen vermögen alle diejenigen Farbstoffe sich zu Lacken zu vereinigen, welche in ihrem Molekül zwei oder mehrere Hydroxylgruppen in benachbarter Stellung enthalten. Dies trifft zu bei sämmtlichen Alizarinfarbstoffen, beim Naphtazarin, Galleïn und Cöruleïn, sowie bei manchen neueren Farbstoffen, deren Synthese unter specieller Berücksichtigung der eben genannten Forderung ausgeführt worden ist. Die genannte, den Charakter eines Gesetzes tragende Bedingung kann dadurch etwas erweitert werden, dass es in gewissen Fällen zulässig ist, eine der beiden benachbarten Hydroxylgruppen durch eine andere saure Gruppe, speciell Carboxyl, zu ersetzen. Von dieser Möglichkeit ist bei dem Aufbau gewisser beizenfärbender Azofarbstoffe Gebrauch gemacht worden.

Die aus den genannten Beizen und Farbstoffen sich ergebenden unlöslichen färbenden Verbindungen charakterisiren sich als Lacke im strengsten Sinne des Wortes, d. h. sie widerstehen der Einwirkung auch solcher Agentien, welche nach den allgemein giltigen Gesetzen der chemischen Verwandtschaft zersetzend auf sie einwirken sollten, wenn sie als gewöhnliche Salze aufzufassen wären. Sie werden somit weder von mässig verdünnten starken Mineralsäuren (z. B. Salzsäure, Schwefelsäure etc.), noch von starken Basen in verdünnter wässeriger Lösung (Kalilauge, Natronlauge, Ammoniak u. s. w.) zersetzt. Infolge dessen sind die Färbungen, welche auf der Bildung dieser merkwürdigen Körper beruhen, durch besondere Echtheit, Widerstandsfähigkeit und Dauerhaftigkeit ausgezeichnet.

Das Verhalten dieser typischen Metalllacke gegen die erwähnten Einflüsse macht von vornherein die noch immer vielfach verbreitete Ansicht unwahrscheinlich, dass diese Lacke gewöhnliche Salze der Sesquioxyde mit den betreffenden Phenolen seien. In der That hat sich in keinem Falle für einen derartigen Lack die normale Zusammensetzung eines solchen Salzes nachweisen lassen. In einigen wenigen Fällen können vielleicht diese Lacke als basische Lacke aufgefasst werden; in der grossen Mehrzahl der Fälle aber zeigt es sich, dass es gar nicht die Hydrate der Sesquioxyde sind, welche mit dem Farbstoff den Lack erzeugen, sondern basische Salze anderer Säuren. So ist z. B. der dem Türkischroth zugrunde liegende Alizarin-Thonerdelack nicht

etwa aus Thonerde und Alizarin herstellbar, sondern die auf dem Gewebe zu fixirende Thonerdeverbindung muss ein basisches Acetat sein. In einzelnen Fällen erweist es sich als vortheilhaft, dass diesem basischen Acetat eine gewisse Menge von basischem Nitrat beigemengt sei. Ferner hat man die Erfahrung gemacht, dass bei der Herstellung solcher Färbungen der Kalkgehalt des zum Ansetzen der Färbebäder dienenden Wassers eine sehr wichtige Rolle spielt. Mit kalkfreien Wässern, wie sie in einzelnen Gegenden vorkommen, lassen sich unter Umständen solche Färbungen überhaupt nicht erzielen, wenn man nicht den Färbebädern den nöthigen Kalkgehalt durch Zusatz von Kreide oder organischen Kalksalzen giebt. Diese Beobachtungen haben dazu geführt, dass namentlich von Horace Köchlin genauere Untersuchungen über die Wirkung der Gegenwart von Metalloxyden, die wie der Kalk nach dem Typus Me O gebaut sind, auf das Zustandekommen solcher Lackfärbungen gemacht worden sind. Es sind Magnesium-, Zink-, Blei-, Baryum- und andere Oxyde angewendet worden und in allen Fällen hat man eine ganz bestimmte Wirkung auf die Nuance und Tiefe der erzielten Färbung konstatiren können. Unter solchen Umständen ist man zu der Annahme berechtigt, dass auch diese Oxyde sich an dem Zustandekommen des Lackes betheiligen, der demgemäss als eine chemische Verbindung von höchst komplicirtem Bau erscheint.

Eine ganz besondere Art der Färberei ist die Küperei. Als »Küpen« bezeichnet man Färbebäder, in welchen der Farbstoff nicht als solcher, sondern in Form seiner um zwei Wasserstoffatome reicheren Leukoverbindung enthalten ist. Die Methode des Küpens kann in allen den Fällen Anwendung finden, in welchen es sich um total unlösliche Farbstoffe handelt, deren zugehörige Leukoverbindung leicht in wässerige Lösung gebracht werden kann und sich durch die blosse oxydirende Wirkung des Luftsauerstoffs in den ursprünglichen Farbstoff zurück zu verwandeln vermag. Die Methode der Küpenfärberei ist von grösster Wichtigkeit für den Indigo, dessen Anwendung fast ausschliesslich durch Küpen erfolgt; sie kann aber auch für andere Farbstoffe, die den angegebenen Bedingungen entsprechen, Verwendung finden. Die Wirkung der Küpe beruht darauf, dass bei der Berührung der mit dem Küpenbade vollgesogenen Faser mit der Luft der durch den Sauerstoff regenerirte Farbstoff unlöslich in der Faser niedergeschlagen und befestigt wird. Sehr förderlich ist es für diese Art der Färberei, wenn die fragliche Leukoverbindung substantive Eigenschaften für die zu färbende Faser besitzt, wie es z. B. mit dem Indigoweiss der Fall ist. Bei solcher Sachlage bringt die Faser beim jedesmaligen Eintauchen in die Küpe eine grössere Menge von farbstoffgebender Substanz mit sich empor, als blos dem Volumen des aufgesogenen Farbbades entsprechen würde. Auch wird in diesem Falle die Menge des bei der Oxydation nur oberflächlich auf der Faser abgelagerten und daher abspülbaren Farbstoffes im Vergleich zu der Menge des von der Faser wirklich festgehaltenen kleiner werden.

Die Indigoküpe ist stets alkalisch, weil das Indigweiss nur in Alkali löslich ist. Zur Ansetzung der Indigoküpe sind auch nur solche Reduktionsmittel brauchbar, welche in alkalischen Flüssigkeiten zu wirken vermögen. Als solche kommen in Betracht: Zinkstaub, die durch Reduktion von sauren Sulfiten entstehenden Hydrosulfite, Glukose und sauerstoffbedürftige Mikroorganismen. In allen Küpen muss ein Ueberschuss an Reduktionsmitteln vorhanden sein, weil an der der Luft dargebotenen Oberfläche der Küpe eine fortwährende Rückbildung von Farbstoff erfolgt, welche infolgedessen als farbige Haut (Blume) auf der Küpe schwimmt. Alle Küpen werden als kontinuirliche Färbebäder benutzt, deren Verlust an Farbstoff und Reduktionsmittel fortwährend durch Zugabe einer frisch hergestellten, besonders kon-

centrirten Lösung der Leukoverbindung ersetzt wird (»Ernährung« der Küpe durch Zusatz von »Stammküpe«).

Sowohl die Erzeugung von sesquioxydischen Farblacken wie die Küpenfärberei sind uralte Errungenschaften der Industrie. Der Indigo ist seit den ältesten Zeiten von allen Völkern, die sich seiner bedienten, verküpt worden. Auch die Purpurfärberei des klassischen Alterthums war unzweifelhaft eine Küpenfärberei, wie sich aus der von der Kaiserin Eudoxia Makrembolitissa verfassten Beschreibung der Erscheinungen beim Purpurfärben ergiebt. Das Färben mit Krapp unter Zuhilfenahme von Thonerde und Eisenbeizen ist als Kunstfertigkeit der Aegypter bei Herodot beschrieben und lässt sich auch in Persien und Indien bis in die allerältesten Zeiten hinein verfolgen. Die am Krapp ermittelten Methoden der Beizenfärberei sind später auf die anderen natürlichen Pflanzenfarbstoffe übertragen worden, von welchen die meisten den Charakter komplicirter Polyphenole mit benachbarter Stellung der Hydroxylgruppen besitzen. Die Färberei basischer Farbstoffe mit Hilfe von Tannin und anderen Gerbstoffen hat wesentliche Bedeutung erst seit Einführung der zahlreichen basischen Theerfarbstoffe erlangt.

Eine besondere Abart der Färberei ist das »Pflatschen« (französisch »foulardage«, englisch »padding«), welches da, wo es anwendbar ist, nicht nur eine sehr sparsame Ausnutzung des Färbebades gestattet, sondern namentlich in Verbindung mit dem sogleich zu besprechenden Zeugdruck unter Umständen die einzig zulässige Färbemethode bildet. Das »Pflatschen« ist nur für Gewebe anwendbar und besteht darin, dem Gewebe nur so viel Färbebad zuzuführen, als es durch Kapillarität aufzunehmen und festzuhalten vermag. Die geringe Menge des angewandten Färbebades bedingt selbstverständlich eine sehr grosse Koncentration desselben. Das »Pflatschen« ist infolgedessen nur bei leicht löslichen Farbstoffen durchführbar. Es kann einseitig oder zweiseitig ausgeführt werden, bei der zweiseitigen Ausführung wird das Gewebe im gespannten Zustande durch das koncentrirte Färbebad hindurchgezogen und sogleich auf eine Walze aufgerollt, in diesem Zustande bleibt es eine Zeit lang liegen, bis der Färbeprocess sich in der feuchten Masse abgespielt hat. Die bei koncentrirten Färbebädern leicht auftretende Gefahr des unegalen Färbens wird hier durch die gleichmässige Passage des gespannten Gewebes im Färbebad und das sorgfältige Aufrollen unter Vermeidung aller Falten beseitigt. Natürlich ist eine derartige Färbung nur unter Zuhilfenahme maschineller Einrichtungen möglich. Nach Beendigung des Färbeprocesses wird das Gewebe von den werthlosen Resten des Färbebades durch Waschen befreit. Das einseitige »Pflatschen« ist eigentlich eine Art des Zeugdrucks, es besteht darin, dass das koncentrirte und passend verdickte (s. weiter unten) Färbebad mittels einer gleichmässig gerauhten Walze, gewöhnlich einer gravirten Kupferwalze nur auf eine Seite des Gewebes aufgetragen wird. Durch sehr sorgfältiges Abstimmen der Verdickung des Färbebades hat man es in neuerer Zeit dahin gebracht, irgend welchen Geweben zwei vollständig verschieden gefärbte Seiten zu geben, was unter Umständen, z. B. bei der Herstellung von Futterstoffen, von sehr grossem Werthe sein kann. Der Färbeprocess beim »Pflatschen« vollzieht sich nach denselben Grundsätzen, welche weiter oben für das Färben überhaupt entwickelt wurden, aber dadurch, dass beim »Pflatschen« die in Färbebädern sonst auftretenden Strömungen so gut wie vollständig beseitigt sind, hört die waschende Wirkung, welche sonst jedem Färbebad eigen ist, vollständig auf, was unter Umständen in der Technik der Druckerei von grösstem Werthe sein kann.

Zeugdruck. Als »Zeugdruck« bezeichnet man diejenige Abart der Färberei von Textilerzeugnissen, bei welcher die Färbung nicht gleichmässig über das ganze Material sich erstreckt, sondern nur an einzelnen Orten

desselben auftritt; es wird also die Färbung lokalisirt. Dadurch, dass man den Färbungen verschiedene Gestalt giebt, und gleichzeitig auf einem und demselben Stück Stoff mehrere verschiedene Färbungen vornimmt, können die mannigfaltigsten Effekte in Farbe und Zeichnung erzielt werden. In seinen Effekten lehnt sich der Zeugdruck vielfach an die Erzeugnisse der Buntweberei an und imitirt dieselbe mitunter auf das täuschendste. Andererseits kann er sich auch von derartigen Nachahmungen frei machen und eigene Bahnen wandeln, auf denen er schliesslich mit den graphischen Gewerben zusammentrifft, welche, auf Papier als Unterlage arbeitend, in erster Linie der Kunst dienstbar sind. Während aber die graphischen Künste die von ihnen benutzten Materialien ausschliesslich durch Klebstoffe und Firnisse auf der Unterlage befestigen, muss der Zeugdruck der Forderung genügen, waschechte Erzeugnisse hervorzubringen. Der Zeugdruck ist ebenso wie die Färberei ausserordentlich alt und schon in allen Kulturländern frühzeitig geübt worden.

Die Methoden des Zeugdruckes sind ausserordentlich mannigfaltig; nur die wichtigsten derselben können hier kurz besprochen werden. Man kann zwischen solchen Methoden unterscheiden, welche sich noch an die gewöhnlichen Verfahren der Färberei anlehnen oder dieselben zur Hilfe nehmen und solchen, welche vollkommen eigene Wege einschlagen. Die letzteren sind in der Neuzeit mehr im Gebrauch, während die ersteren zweifellos ein grösseres Alter besitzen; doch sind sie infolge der eigenartigen Effekte, welche sie liefern, bis auf den heutigen Tag nicht entbehrlich geworden.

Wohl die älteste Methode des Zeugdruckes ist der bis auf den heutigen Tag in Indien in grossem Umfange betriebene »Bandanadruck«, welcher auch als »Tie-and-Dye-Process« bezeichnet wird. Derselbe ist für jeden beliebigen Farbstoff anwendbar und besteht darin, dass der zu bedruckende Stoff mit Hilfe von Nadel und Faden in verschiedene Falten gelegt zusammengenäht oder auch mit Knoten durchsetzt wird. Wird das so vorbereitete Stück nunmehr in ein gewöhnliches Färbebad gebracht, so kann an den festgenähten und geknoteten Stellen die Flüssigkeit nicht eindringen, diese Stellen bleiben daher weiss. Durch mehrfache Wiederholung des Verfahrens unter Verwendung immer anderer Knotungen und anderer Färbebäder lassen sich die verschiedenartigsten, oft sehr reichen Effekte zustande bringen. Ein analoges Verfahren wird heute noch in Europa zur Herstellung gemusterter Strickgarne benutzt, indem die Strähne derselben vor dem Färben an denjenigen Stellen verschnürt werden, welche ungefärbt bleiben sollen.

Bei dieser Art des Zeugdruckes sind irgend welche Druckformen noch nicht erforderlich, bei jeder anderen aber ist dies der Fall, wenn man nicht an die Stelle des eigentlichen Druckes eine dem gleichen Zweck dienende Handmalerei setzen will. Die von dem Zeugdruck verwendeten Formen können aus dem verschiedensten Material hergestellt werden und ebenso, wie dies bei den graphischen Künsten der Fall ist, die zur Aufnahme der Farben bestimmten Stellen erhaben oder vertieft ausgeschnitten tragen. Im ersteren Falle haben wir es mit dem Hochdruck oder Reliefdruck, im anderen Falle mit dem Tiefdruck zu thun. Die Hochdruckformen werden häufig als »Mödel« bezeichnet, sie können aus dem verschiedensten Material hergestellt sein. Am häufigsten wird Birnbaumholz benutzt, daneben finden Letternmetall, Messing und Kupfer Verwendung. Grössere Flächen werden zur Erzielung eines gleichmässigeren Druckes nicht selten mit Filz belegt. Der Tiefdruck findet hauptsächlich bei den mechanischen Druckverfahren Anwendung, die Formen sind nichts anderes als Kupferstiche auf flachen oder cylindrisch gestalteten Kupfer- oder Messingplatten.

Bei allen mit Hilfe von Druckformen irgend welcher Art hergestellten Effekten ist es Bedingung, die aufgedruckte Masse so vorzubereiten, dass

sie nicht infolge der Kapillarität des Gewebes von diesem aufgesaugt und verschleppt werden kann. Nur in diesem Falle ist eine Reinheit der Konturen erzielbar. Wo die aufzudruckenden Substanzen nicht, wie dies z. B. bei Fetten und Harzen der Fall ist, an sich die geeignete Konsistenz besitzen, muss durch geeignete Zusätze dieselbe herbeigeführt werden. Als solche können bei allen wässerigen Lösungen Substanzen dienen, welche diesen eine schleimige oder dickliche Beschaffenheit geben, also die verschiedenen Gummiarten, Stärkekleister, Tragant, Dextrin und dergl. Man bezeichnet diese Substanzen als »Verdickungsmittel«, sie sind in einer solchen Menge zu verwenden, dass der Kapillarität des Gewebes gerade die Wage gehalten wird. Unter Umständen wird die Wirkung dieser Substanzen noch dadurch erhöht, dass man den Druckfarben sehr poröse Körper zusetzt, welche durch ihre eigene Porosität der Kapillarität des Gewebes entgegenwirken. Solche Zusätze sind Pfeifenthon, Kaolin, Kreide und dergl.

Diejenige Form des Zeugdruckes, welche unter Verwendung von Mödeln dem oben geschilderten Bandanadruck am nächsten steht, ist die »Reservage«. In ihrer einfachsten Gestalt besteht dieselbe darin, auf das Gewebe Substanzen aufzudrucken, welche die Saugfähigkeit desselben für Wasser vernichten. Beim nachfolgenden Ausfärben kann dann das Färbebad an den bedruckten Stellen nicht eindringen, wodurch die gesuchten farbigen Effekte zustande kommen. Auch hier kann man durch mehrfache Wiederholung des Verfahrens unter Benutzung verschiedenartiger Färbebäder eine reiche Manuigfaltigkeit erzielen. Hierher gehört der bei den malayischen Völkern übliche und zu hoher Vollkommenheit gebrachte »Batikdruck«, bei welchem die angewandte Reservage aus Gemischen von Damarharz mit Wachs besteht, welche im geschmolzenen Zustande aufgemalt oder mit warmen Kupfermödeln aufgedruckt werden. Durch Knillen und Knittern des mit der Reservage bedruckten Gewebes in kaltem Wasser werden Sprünge in der Reservage erzeugt, welche bei dem nachfolgenden Färbeprocess in der Form haarfeiner verästelter Zeichnungen zur Wirkung kommen. In der europäischen Industrie findet ein ähnliches Verfahren Anwendung in der Seidendruckerei: hier wird geschmolzenes Paraffin auf die zu färbende Seide aufgedruckt. Alle derartigen Verfahren verlangen die Anwendung kalter oder nur lauwarmer Färbebäder und sind infolgedessen nicht sehr bequem. Man hat daher statt der geschmolzenen Harze schleimige und nach dem Auftrocknen schwer in Wasser wieder lösliche Stoffe als Reserven benutzt. Ein derartiges Verfahren wird in Japan ausgeführt, wo ein aus dem Mehl einer besonderen Art von Reis (Oryza glutinosa) gekochter, äusserst zäher Kleister als Reserve auf Seidenstoffen höchst sinnreiche Verwendung findet. Die europäische Industrie verwendet steifen Roggenmehlkleister zum gleichen Zwecke. Derartige Reserven heissen Schutzpappen. Da sie nach Beendigung des Färbeprocesses durch andauerndes Waschen und vielfaches Bürsten entfernt werden müssen, was sehr mühsam ist, so geht ihr Gebrauch mehr und mehr zurück, doch finden Schutzpappen auch bei uns gelegentlich noch in der Indigofärberei Verwendung.

Als »chemische Reserven« bezeichnet man auf das zu färbende Gewebe aufgedruckte Substanzen, welche dadurch, dass sie das nachträglich aufgebrachte Färbebad lokal zersetzen, das Gewebe vor dem Gefärbtwerden schützen. So kann man z. B. anilinschwarz zu färbende Gewebe dadurch mit einem Muster versehen, dass man vorher alkalische Druckfarben auf dasselbe aufbringt. Da die Entwicklung des Anilinschwarz nur in saurer Lösung vor sich geht, so wird an den alkalisch gemachten Stellen kein Anilinschwarz sich bilden können; dieselben werden also weiss bleiben. Eine der am häufigsten verwendeten chemischen Reserven ist Zinkstaub, derselbe wirkt auf die allermeisten Farbstoffe reducirend, indem er sie in die zuge-

hörigen farblosen Leukoverbindungen verwandelt und somit den Farbstoff zerstört, ehe er in das Gewebe eindringen kann.

Bei den meisten Reserven muss die nachfolgende Färbung nicht in einem gewöhnlichen Färbebade, sondern durch das Verfahren des »Pflatschens« geschehen. weil nur dieses eine Gewähr dafür bietet, dass die aufgedruckte Reserve nicht während des Färbens heruntergewaschen wird.

In einem gewissen Gegensatz zu der Reservage stehen die Methoden des Aetzdruckes, bei welchem die auf das vorgefärbte Gewebe aufgedruckte Mischung den gefärbten Farbstoff zerstört, so dass nach dem Waschen die ungefärbte Faser wieder freigelegt wird. Der Aetzdruck lässt sich natürlich nur dann anwenden, wenn chemische Reaktionen bekannt sind, die eine Zerstörung des Farbstoffes ohne gleichzeitigen Angriff des Gewebes gestatten. Dies ist ziemlich häufig der Fall. So z. B. lässt sich das Alizarin ebenso wie seine nächsten Verwandten durch schwach angesäuerte Chlorkalklösung zerstören, welche Baumwolle noch nicht angreift. Das auf diese Thatsache gegründete, unter dem Namen »Türkischroth-Aetzdruck« bekannte Verfahren gestaltet sich in der Weise, dass auf den türkischroth gefärbten Stoff verdünnte Lösungen von Weinsäure oder Citronensäure aufgedruckt werden. Da diese in ihrem normalen alkalischen Zustande das Alizarinroth nicht angreift, an den bedruckten Stellen aber unter Bildung von freier unterchloriger Säure zersetzt wird, so werden naturgemäss nur diese Stellen weiss geätzt. Dieses Verfahren lässt sich wie die meisten anderen Aetzverfahren in der Druckerei dadurch ausgestalten, dass man gleichzeitig mit der Aetzung farbige Effekte auf den geätzten Stellen hervorbringt. Dies kann z. B. dadurch geschehen, dass man der Aetzfarbe Bleisalze zusetzt, wodurch in der Chlorkalkpassage Chlorblei auf den geätzten Stellen niedergeschlagen wird, welches sich bei einer nachträglichen Behandlung des Gewebes mit einer Lösung von Kaliumbichromat in gelbes Bleichromat verwandelt, welches waschecht fixirt ist. Oder man kann der Aetzfarbe in Oxalsäure vertheiltes sogenanntes lösliches Berliner Blau zusetzen. Dieses wird von Chlorkalk ebenfalls nicht angegriffen, da ihm aber durch das Chlorkalkbad die lösende Säure entzogen wird, schlägt es sich waschecht fixirt in den gleichzeitig weiss geätzten Stellen nieder, wodurch blaue Effekte auf rothem Grunde zustande kommen. Durch nachträglichen Ueberdruck gelber Farbe lassen diese sich. so weit erforderlich, wieder in Grün verwandeln.

Auf einer anderen Reaktion beruht der (von CAMILLE-KÖCHLIN ausgebildete) ebenfalls vielfach ausgeübte Aetzdruck auf mit Indigo geküpten Geweben. Der gegen Licht und die meisten chemischen Einflüsse höchst widerstandsfähige Indigo wird durch Oxydationsmittel leicht zerstört. Schon Bichromat greift ihn energisch an, während die normalen Chromate ohne Wirkung auf ihn sind. Bedruckt man daher indigoblaue Gewebe mit einer verdickten Lösung von normalem (gelbem) Kaliumchromat, so findet zunächst keine Reaktion statt. Beim Eintauchen des Gewebes in sehr verdünnte warme Schwefelsäure aber wird das normale Chromat in Bichromat übergeführt, welches den Indigo, mit dem es in Berührung ist, augenblicklich unter Bildung von Isatin oxydirt. Um zu verhindern, dass ein Ueberschuss aufgedruckten Chromates in dem Säurebad sich anhäuft und nun auch die nicht mit Aetzfarbe bedruckten Theile des Gewebes angreift, setzt man dem Säurebade Oxalsäure zu, welche diesen Ueberschuss zerstört. Auch hier kann man durch einen Kunstgriff farbige Effekte hervorbringen, indem man der aufgedruckten Bichromatfarbe Albumin zusetzt und demselben beliebige Pigmente beimischt. Durch die Wirkung der warmen Schwefelsäure wird das Albumin koagulirt und die Pigmente werden waschecht auf dem Gewebe befestigt.

Während beim Alizarin und Indigo oxydirende Aetzfarben Verwendung finden, geschieht gerade das Umgekehrte bei Geweben, die mit einem der zahllosen Azofarbstoffe vorgefärbt sind. Hier kann durch Aufdruck von Zinnsalzlösungen eine lokalisirte totale Reduktion des Farbstoffes und damit eine Aetzung vorgenommen werden.

Während Reserve- sowohl wie Aetzdruckmethoden die dem Druck vorangehende oder nachfolgende Verwendung normaler Ausfärbungen, eventuell in der Form des »Pflatschens«, zur Voraussetzung haben, giebt es auch Methoden, die von der gleichzeitigen Benutzung der eigentlichen Färberei unabhängig sind; dies sind die Verfahren zum Aufdruck der sogenannten Tafel- und Dampffarben. Bei beiden handelt es sich um die lokale, durch die bereits besprochenen mechanischen Hilfsmittel des Zeugdruckes vorgenommene Applikation sehr koncentrirter Färbebäder, welche auf die Faser entweder in substantiver Weise oder durch die nachfolgende Abscheidung eines Lackes einwirken. Bei den jetzt nur noch wenig gebräuchlichen Tafelfarben spielt sich die Befestigung des aufgedruckten Farbstoffes durch blosses Trocknen eventuell unter Mitwirkung des Luftsauerstoffes ab. Bei den Dampffarben wird sie dagegen durch die nachfolgende Behandlung des Gewebes mit trockenem Dampf zuwege gebracht.

Dampffarben, bei denen die Farbstoffe in rein substantiver Weise auf den Geweben befestigt werden, finden fast nur für thierische Fasern, also für Seide und Wolle Anwendung. Sie bestehen aus passend verdickten, leicht angesäuerten koncentrirten Lösungen der erforderlichen Farbstoffe. Der schon beim Aufdruck beginnende Färbungsprocess geht durch die Erhitzung mit Hilfe des Dampfes zu Ende, beim nachfolgenden Waschen wird das Verdickungsmittel entfernt; der ganze Vorgang unterscheidet sich von einer gewöhnlichen substantiven Färbung nur durch die Lokalisation und die grössere Koncentration des Färbebades. Die substantiven Baumwollfarbstoffe finden im Zeugdruck geringere Verwendung, weil es unter ihnen kaum irgend welche giebt, deren Färbebäder vollständig ausgezogen werden. Wenn man sie in koncentrirter Lösung auf Baumwollgewebe aufdruckt, so »bluten« trotz des nachfolgenden Dämpfens die bedruckten Stellen beim Waschen, wodurch die unbedruckten weissen Stellen des Gewebes beschmutzt werden.

Bei Baumwolle bedient man sich daher im Zeugdruck mit Vorliebe adjektiver Färbungsmethoden, indem man die Druckfarben so zusammensetzt, dass durch das nachfolgende Dämpfen die Bildung eines Farblackes eingeleitet wird. Für basische Farbstoffe bedient man sich zu diesem Zwecke einer ganz allgemeinen Methode, welche darin besteht, dass man der Druckfarbe ausser dem nöthigen Farbstoff auch noch die erforderliche Quantität Tannin, sowie eine erhebliche Menge von Essigsäure zusetzt. Die Essigsäure verhindert zunächst die Bildung eines Tanninlackes, beim nachfolgenden Trocknen und noch mehr beim Dämpfen verflüchtigt sie sich aber, wobei Farbstoff und Tannin in Wechselwirkung treten und im Innern der Faser der gewünschte Lack entsteht. Um diesem die erforderliche vollkommene Waschechtheit zu geben, wird das gedämpfte Gewebe gewöhnlich noch vor dem Waschen durch die Lösung eines Antimonsalzes passirt.

Die Bildung der Metalllacke beizenfärbender saurer Farbstoffe im Zeugdruck wird in ganz ähnlicher Weise zustande gebracht. Auch hier wird die sesquioxydische Beize in Form ihres Acetats unter Zugabe freier Essigsäure gemeinsam mit dem Farbstoff auf das Gewebe aufgedruckt, wobei beide zunächst reaktionslos bleiben. Beim Dämpfen bildet sich der Lack, während gleichzeitig die die Lösung beider Reagentien begünstigende Essigsäure verfliegt. Dieser moderne »Alizarindruck« beruht in letzter Linie auf denselben Principien wie das uralte, schon von den Aegyptern und von allen Völkern des Orients ausgeübte Verfahren des Krappdruckes, dessen Aus-

führung allerdings eine ganz andere ist. Hier werden zunächst die Beizen für sich allein, gewöhnlich auch in Form ihrer Acetate, auf das Gewebe aufgedruckt und dieses wird nachträglich in einer Krapp- oder Alizarinbrühe ausgefärbt. Da für die meisten Alizarinfarbstoffe die verschiedenen Beizen (Thonerde, Eisen, Chrom) verschiedene Färbungen ergeben, da ferner das Gewebe an den nicht mit Beize bedruckten Stellen weiss bleibt, so zeigt ein mit verschiedenen Beizen bedrucktes Gewebe nach der Ausfärbung eine bunte Zeichnung.

Schliesslich sind noch diejenigen zahlreichen und zum Theil ausserordentlich wichtigen Druckmethoden zu erwähnen, bei welchen unlösliche Pigmente direkt in der Faser gebildet werden. So z. B. liefert eine Anilinsalz, Kaliumchlorat und Kupfer- oder Vanadinsalz enthaltende Druckfarbe nach dem Aufdruck durch blosses Verhängen in warmen Räumen oder durch kurzes Dämpfen das ausserordentlich echte, fast unzerstörbare Anilinschwarz. Durch Aufdruck verdickter Lösungen von Diazoverbindungen auf Gewebe, die mit β-Naphtol oder anderen geeigneten Substanzen imprägnirt sind, werden lokal unlösliche Azofarbstoffe, die sogenannten »Eisfarben« gebildet. Eine erschöpfende Aufzählung aller hierher gehörigen Methoden würde den engen Rahmen dieses Aufsatzes überschreiten.

Otto N. Witt, Berlin.

Färbungen, Allgemeine Methode der histologischen. Alle mikroskopischen Färbungen haben in erster Linie den Zweck, die Struktur der Gewebe zu verdeutlichen; erst in zweiter Linie und einstweilen nur nebenher kommen die Farben auch als mikrochemische Reagentien in Betracht. Die Möglichkeit der Erzeugung einer färberischen Differenzirung im Einzelnen ist nun in hohem Grade abhängig von der Eigenschaft der Färbbarkeit der Gewebe im Allgemeinen. Diese allgemeine Färbbarkeit wird durch die nothwendigen Vorbehandlungen der Gewebe, wie sie in der Fixirung und Härtung gegeben sind, häufig in starkem Grade beeinflusst. Es muss also die Vorbehandlung möglichst so geleitet werden, dass die allgemeine Färbbarkeit erhalten, vielleicht sogar gesteigert, nicht aber herabgedrückt wird.

Einfluss der Eiweiss fällenden Mittel. Die allgemeine Erfahrung der Mikroskopiker hat gelehrt, dass bei Fixirung durch Alkohol eine vortreffliche Färbbarkeit hinterbleibt. Der Alkohol fällt die Eiweisskörper durch Wasserentziehung; eine vollständige Koagulation, d. h. Unlöslichmachung der Eiweisskörper, tritt erst bei längerer Wirkung des Alkohols ein. Da die Eiweisse im übrigen durch Alkohol wenig verändert werden, so hinterbleibt eine gewisse Form der Färbbarkeit, die etwa als die natürliche Färbbarkeit der Gewebe bezeichnet werden kann. In chemischer Beziehung dürfte diese Art der Färbbarkeit wahrscheinlich annähernd mit der genuinen Reaktionsfähigkeit der Eiweisskörper (genuine oder native Basen- und Säurekapacität) zusammenfallen. Ist es den Umständen nach möglich, Zellen und Gewebe durch vorsichtiges Auftrocknen auf dem Objektträger zu fixiren (Ehrlich, Blutpräparate), so wird man ebenfalls eine natürliche Reaktionsfähigkeit erhalten.

Nur wenige andere Fixirungsmethoden ergeben qualitativ gleich gute Resultate wie der Alkohol. In erster Linie nennen wir das Sublimat (lösen sich 9% in 0,6%iger NaCl-Lösung), welches die Aufnahmefähigkeit für Farben zu steigern scheint und die Nüance derselben nicht beeinflusst. In zweiter Linie, und zwar besonders empfehlenswerth in Beziehung auf Färbbarkeit, ist die Trichloressigsäure (bis 5%ige Lösungen), welche alle Eiweisskörper (auch Mucine) ausfällt, und hierzu kämen vielleicht auch noch Carnoy's Gemisch (Alkohol + Chloroform + Essigsäure) und eventuell die

reine Essigsäure (VAN BENEDEN, Fixirung thierischer Eier). Alle anderen Mittel ändern die Färbbarkeit in qualitativer Beziehung oder drücken sie herunter.

Am stärksten drückt die Osmiumsäure die allgemeine Färbbarkeit herunter. Präparate, die in 1%iger Osmiumsäure gehärtet wurden, sind in keiner Weise (ausser durch Abscheidung des metallischen Osmiums; Metallimprägnation) typisch färbbar; man erhält zwar allerhand Farbenreaktionen, dieselben sind aber durchaus inkonstant und ungleichmässig. Die Färbbarkeit osmirter Stücke wird theilweise wieder hervorgerufen durch oxydirende Mittel (Kalium bichromicum nach R. HEIDENHAIN oder noch besser freies Chlor in Gestalt des officinellen Chlorwassers) oder durch nachträgliche Einwirkung von Sublimat. Bei Stücken, die in reiner Osmiumsäure fixirt waren, wird man allerdings auch damit nicht viel erreichen, wohl aber bei Stücken, die der Wirkung von Osmiumgemischen ausgesetzt waren (z. B. nach Einwirkung von Sublimat-Osmium Einlegen der Stücke in reines Sublimat auf 8 Tage oder Chloriren der Schnitte auf dem Objektträger).

Von anderen Mitteln ist es besonders die Salicylsäure, für sich allein oder in Gemischen angewendet, welche die Färbbarkeit — und zwar unwiederbringlich — herabdrückt; das Gleiche gilt von starken Mineralsäuren (z. B. nach Macerationen in 20%iger Salpetersäure, 5%igem Königswasser).

Specifisch verändert wird die Färbbarkeit zunächst nach Anwendung der Pikrinsäure; sie beeinflusst den Farbenton der Karmine und Hämatoxyline, beziehungsweise kann sie für diese Farben sogar als Differenzirungsmittel in Betracht kommen. Gegen Anilinfarben soll Pikrinsäure tolerabler sein (RAWITZ). Vor allen Dingen aber wirken die vielfach gebrauchten chromhaltigen Fixirungsmittel verändernd auf die Färbbarkeit ein. Gewebe, die mit MÜLLER'scher Flüssigkeit, Chromsäure etc. behandelt wurden, enthalten entweder von Anbeginn an oder aber sicher nach einiger Zeit Chromoxyd (chromsaures Chromoxyd nach UNNA). Daher sind Präparate aus derartig fixirten Geweben immer sauer (falls nicht absichtlich neutralisirt, beziehungsweise alkalisirt wurde) und neigen zu oxydirenden Wirkungen. Beide Eigenschaften sind verderblich für Pflanzenfarben. Die Gegenwart von Chrom wirkt ferner als Beize für Hämatoxylin- und mancherlei Anilinfarben, so dass die primäre Färbbarkeit völlig verändert ist. Aehnlich würden sich in Kupfersulfat erhärtete Gewebe verhalten.

Wird in Sublimat gehärtet, so ist dringend anzurathen, nach der Jodirung der Präparate das überschüssige Jod möglichst vollständig zu entfernen. Das Jod hindert zwar die Färbung an sich nicht, es zerstört aber über längere Zeit hin die Farbe, besonders Hämatoxylin- und Anilinfarben.

Es ist schwer, aus dem Verhalten der Farbstoffe gegenüber verschieden fixirten Geweben ein allgemeines Princip herauszulesen. Sieht man von vielen Einzelheiten ab, so kann man sagen, dass die Einführung von mehrwerthigen Metallen in das Eiweiss (Chrom- und Quecksilberalbuminate) die Färbung erleichtert, wenn auch mitunter specifisch verändert (Chromirung), dass hingegen der Gebrauch starker Säuren, durch welche die im Protoplasma vorfindlichen Metalle (Ca, Mg) extrahirt werden, auf die nachfolgende Färbung schädigend wirkt.

Auswaschung: Die fixirten Präparate müssen, wenn Säuren oder Metallsalze angewendet wurden, gut ausgewaschen werden. Es soll hierdurch verhindert werden, dass die imbibirten Fixirungsmittel auf die Farben chemisch einwirken: man will eine möglichst reine Reaktion zwischen den koagulirten Eiweisskörpern und den Farbkörpern haben. Gutes Auswaschen befördert zudem die Diffusion zwischen Farblösung und Gewebe. Wäscht man nicht aus, so werden die Farblösungen die Auswaschung übernehmen und in diesem Falle wird das Diffusionsgefälle häufig in der ersten Zeit in der Richtung Gewebe ⟶ Farblösung verlaufen, während wir das umge-

kehrte Diffusionsgefälle Farblösung ⟶ Gewebe haben wollen. Die Diffusion wird sehr erheblich dadurch angeregt, dass wir die Gewebe mit Alkohol durchtränken: der letztere wird durch eine wässerige Farblösung schleunigst extrahirt und verdrängt. Ausnahmen: Man wäscht solche Fixirungsmittel nicht oder nur unvollkommen aus, welche man als Beizmittel im Gewebe erhalten will, z. B. MÜLLER'sche Flüssigkeit vor der Färbung mit karminsaurem Natron.

Bevor man ans Färben geht, hat man sich zu entscheiden, ob man das ganze Stück durchfärben will — »Durchfärbung« — oder ob man lieber die einzelnen Schnitte in Arbeit nimmt — »Schnittfärbung«. Für Durchfärbung eignen sich Anilinfarben nicht, weil sie ein zu geringes Durchdringungsvermögen besitzen. Sollte dennoch ein Versuch gewünscht werden, so müssten die Farben in alkoholische Lösung gebracht werden (vergl. Theorie der histologischen Färbungen). Im allgemeinen wird man bei der Stückfärbung auf Karmine und Hämatoxyline angewiesen sein und man wird zudem eine Methode wählen müssen, bei der man des Erfolges einigermassen sicher ist (Alaunkarmin, Boraxkarmin etc.; Alaunhämatoxylin, Chromhämatoxylin). Nur zu leicht wird beim Durchfärben überfärbt oder zu wenig gefärbt. Daher werden beinahe alle feineren Färbungen Schnittfärbungen sein müssen; man färbe und kontrollire fleissig unter dem Mikroskop. Beschäftigt man sich mit sehr feinen Arbeiten, so ist es dringend nothwendig, das gefärbte, in Wasser liegende Objekt mit einer guten Wasserimmersion genau zu untersuchen (etwa das vorzügliche System D* von ZEISS), um des Färbungserfolges sicher zu sein.

Es giebt in Rücksicht auf das Mechanische im allgemeinen zweierlei Verfahrungsweisen, nämlich progressive und regressive Färbungen. Bei dem progressiven Process werden dünne Farblösungen angewandt und diese lässt man über längere Zeit hin auf das Gewebe einwirken; also z. B. man färbt die auf dem Objektträger fixirten Schnitte in einer sehr verdünnten BIONDI'schen Lösung über 24 Stunden. Wird das Gewebe aus dieser Farbe herausgebracht, so soll es definitiv fertig gefärbt sein, d. h. es soll jetzt keine weitere Procedur mehr folgen, welche den Zweck hat, die nach Massgabe der natürlichen Affinität der Gewebe ohne besondere Einwirkung des Arbeitenden entstandene Färbung weiterhin abzuändern. Werden die Schnitte zum Zweck der Aufstellung in Balsam mit Alkohol übergossen, so wird zwar ein Theil der Farbe, besonders das Methylgrün, herausgespült. Indessen handelt es sich hier nicht um die fest gebundene Farbe, denn beim Uebergiessen mit Alkohol heben nur in den ersten Sekunden sich einige Farbwolken ab. Der Rest sitzt so fest im Schnitt, dass es total unmöglich ist, das Gepräge der Färbung durch weitere Einwirkungen zu verändern. Daher haben wir hier den Typus eines progressiven Verfahrens, bei welchem der Endeffekt der Färbung gänzlich ausser der Willkür des Arbeitenden liegt. Die wissenschaftliche Bedeutung derartiger Färbungen ist darin enthalten, dass in diesen Fällen die specifische Affinität der Gewebebestandtheile zu den Farben das einzig massgebende Princip ist; wir können daher aus derartigen Tinktionen mit gutem Rechte Rückschlüsse auf die chemische Konstitution der Gewebe ziehen.

Es giebt einige Verfahrungsweisen, welche durchaus streng dem Begriffe der progressiven Färbung entsprechen. Dies wird besonders dann der Fall sein, wenn die betreffende Farbe weder durch Wasser noch auch durch Alkohol extrahirt werden kann. Hierher gehört die Vanadiumhämatoxylinfärbung mit ihrer merkwürdigen Polychromie, es gehören hierher auch viele saure Anilinfarben, die, wenn einmal aufgefärbt, durch kein gewöhnliches Mittel mehr beeinflussbar sind (z. B. Anilinblau, Cöruleïn, Brillantschwarz etc.). Wir haben also in der That eine Klasse der progressiven Färbungen in

strengem Sinne; wir möchten aber hieran noch eine zweite Klasse der progressiven Färbungen im weiteren Sinne anschliessen, ohne im übrigen auf dieses Schema der Eintheilung allzu viel Gewicht legen zu wollen.

Es giebt nämlich viele Färbungsweisen, bei denen zwar über lange Zeit hinaus extrahirt wird, um die in dem Gewebe nur lose gebundene Farbe möglichst gut zu entfernen, bei denen aber doch keineswegs die Absicht besteht, durch die Extraktion einen bestimmten Differenzirungseffekt zu erzielen. Hierher möchten wir die vielen indifferenten Karmin- und Hämatoxylinfärbungen rechnen, bei denen das ganze Stück gefärbt und wieder ausgezogen wird. Das Resultat ist meist eine allgemeine Gewebefärbung mit Hervorhebung der Kerne, jedoch ohne besondere Differentiation im Einzelnen. Auch kann für sicher gelten, dass in den gedachten Fällen meist nur sehr wenig Farbe entfernt wird; dies gilt z. B. auch für Durchfärbungen mit Alaunkarmin, Böhmer'schem, Delafield'schem, ja sogar für Chromhämatoxylin.

Es würde sehr vortheilhaft für die Wissenschaft sein, wenn es möglich wäre, mit progressiven Färbungen allein auszukommen. Leider sind wir häufig gezwungen, das durch den natürlichen Vorgang des Färbungsprocesses gelieferte Endresultat willkürlich zu modificiren, indem wir beträchtliche Farbstoffmengen aus den gefärbten Geweben wiederum extrahiren und den Farbkörper auf ganz bestimmte Strukturtheile beschränken, welche eben unserer Absicht nach färberisch hervorgehoben werden sollen. Es hat sich nämlich gezeigt, dass unter den Strukturtheilen der Gewebe gar viele sind, die nach dem progressiven Verfahren nur schlecht zur Ansicht gebracht werden können, da sie sich zwar mit Farbe beladen, aber aus dem übrigen Färbungsbilde des Schnittes nicht sonderlich hervortreten. In diesen Fällen wird man zum Ziele gelangen, wenn man die Vorbehandlung und Färbung so leitet, dass bei einer eindringenden Extraktion des Schnittes die gedachten Strukturtheile den Farbstoff in stärkerem Grade zurückbehalten als die übrigen Gewebebestandtheile. Gewöhnlich ist anfängliche Ueberfärbung des Schnittes einerseits und zweitens ein specifisch ausgesuchtes Extraktions- oder Differenzirungsmittel nöthig. Dies ist das regressive Verfahren der Färbung, als deren klassisches Beispiel wir die Markscheidenfärbung nach Weigert nennen.

Die regressiven Färbungen sollten, wenn irgend möglich, so behandelt werden, dass sie »elektiv« wirken, d. h. es sollte ein bestimmter Gewebebestandtheil entweder ganz allein tingirt oder doch so gut charakterisirt werden, dass eine Verwechslung mit anderen Gewebebestandtheilen nicht möglich ist.

Es ist nicht zu leugnen, dass der definitive Ausfall des Färbungsbildes der regressiv behandelten Präparate in vielen Stücken von der Willkür des Arbeitenden abhängt, namentlich dann, wenn mit Farbstoffen gearbeitet wird, die überhaupt launisch sind und nur mit schwerer Mühe zu einer einigermassen konstanten Wirkung gebracht werden können. Man bedenke, dass bei den meisten Färbungen dieser Art es in das Belieben des Mikroskopikers gestellt ist, die Entfärbung je nach Wunsch früher oder später zu unterbrechen, und so werden unter Umständen sehr verschiedene Bilder entstehen können. Wenn es dann überdies in der Natur des Farbstoffes selber liegt, dass die Regression desselben ungleichmässig bald so, bald anders ausfällt, dann wird eine fast regellos zu nennende Buntheit der Bilder entstehen. Dies gilt unserer Meinung nach vom Safranin und Gentianaviolett, mit denen die Aera der regressiven Färbungen begann (Flemming). Beide Farbstoffe wirken, regressiv behandelt, immer ungleichmässig, und zwar das Gentianaviolett noch viel ungleichmässiger als das Safranin.

Es wird sich mithin fragen, auf welche Weise man bei Anwendung des regressiven Verfahrens zu konstanten Resultaten kommt. Hier lassen sich in der That einige allgemeine Verhaltungsmassregeln aufstellen.

1. Da die regressiven Färbungen auf jedem Stadium der Procedur eine eingehende Kontrole verlangen, so kann mit Vortheil nur der mikroskopische Schnitt, beziehungsweise eine dünne Gewebeplatte regressiv behandelt werden. Grössere Gewebestücke werden nur ausnahmsweise eine Behandlung per extractionem zulassen.

2. Bei allen empfindlichen Methoden, welche mit Entfärbung arbeiten, ist eine absolut gleichmässige Dicke der Gewebslamelle erforderlich. Daher werden meist nur Schnitte, u. zw. nur dünne Schnitte in Betracht kommen können, welche zudem gleichmässig dick sein müssen und beim Schneiden nicht gequetscht werden dürfen. Es gilt die Regel: Schnitte von gleicher Dicke, welche auch in sich gleichmässig dick sind, entfärben sich gleich schnell und liefern Bilder von gleichmässiger Färbung.

3. Ferner kommt die Konstitution des Farbstoffes in Betracht. Es eignen sich besonders Hämatoxylin und basische Anilinfarben, weniger die sauren, weil die letzteren grossentheils sehr echte Färbungen liefern und sich schlecht extrahiren lassen. Der Farbstoff sollte ferner ein bestimmter chemischer Körper (kein Gemenge!) und chemisch rein sein. Ferner sollte er so beschaffen sein, dass er eine einigermassen feste Verbindung mit dem Gewebe eingeht. Ist dies letztere der Fall, dann wird er auch bei der Extraktion nicht launisch sein.

4. Es ist irrig anzunehmen, dass man wegen der nothwendigen Ueberfärbung der Schnitte koncentrirte Lösungen der Farbstoffe haben müsse. Vielmehr gilt als Regel, dass der koncentrirte Farbstoff die Schnitte zwar rasch anfärbt, später aber, bei der Entfärbung, dazu neigt, ungleichmässige Bilder zu liefern. Der verdünnte Farbstoff hingegen wird die Ueberfärbung der Schnitte nur langsam herbeiführen, aber bei der Extraktion ein viel gleichmässigeres Resultat liefern. Der Grund hiefür ist der, dass sich über die Dauer der Zeit hin die chemischen Affinitäten der Gewebebestandtheile gegenüber der Farbstofflösung besser geltend machen können. Auch macht »viel Wasser« den Farbstoff chemisch aktiv (durch Dissociation). Es wird also in diesem Falle bei der Entfärbung die Physik der Sache zurücktreten und die chemische Affinität besser zum Vorschein kommen.

5. Geht man auf die Darstellung ganz bestimmter Gewebebestandtheile aus, so suche man die Verwandtschaft derselben zum Farbstoff durch Auffindung und Anwendung specifischer Beizmittel zu steigern.

6. Die Extraktion soll so geleitet werden, dass sie möglichst langsam vor sich geht. Man befasse sich überhaupt nicht mit »Methoden«, bei welchen die Differentiation innerhalb weniger Sekunden vor sich gehen soll. Hierbei werden immer ungleichmässige Resultate erzielt.

7. Da für den Effekt, den die Entfärbung liefert, die Dichte der Gewebebestandtheile, also ein physikalischer Faktor, wesentlich in Betracht kommt, so muss man von vornherein darauf sehen, dass man diesen Faktor gehörig ausnützt. Man kann also z. B. versuchen, diejenigen Gewebebestandtheile, welche man nicht gefärbt haben will, quellen zu lassen; diese Theile werden dann die Farbe schneller abgeben. Das wirksamste Mittel indessen, welches auf Ausnutzung der Dichte ausgeht, ist ein Verfahren, nach welchem man das Molekularvolumen während der Färbungsprocedur im Schnitt selbst wachsen lässt. Man färbt z. B. einen bestimmten Strukturtheil mit einer Farbe *A* und schickt dann eine zweite Farbe *B* nach, von der man genau weiss, dass sie mit *A* sich chemisch fest verbindet. Hierdurch wird das Molekularvolumen in loco vergrössert; die Farbe wird schwer extrahirbar

und bleibt vornehmlich in den dichteren Strukturtheilen sitzen, soweit nicht nach chemischem Princip eine anderweitige Fixation der Farbstoffe statthatte.

Dies sind die allgemeinen Regeln, welche für regressive Färbungen in Betracht kommen; es bleiben uns zur Besprechung noch übrig: 1. die Beizmittel, 2. die Differenzirungsflüssigkeiten.

Geht man darauf aus, für irgend eine Farbe ein Beizmittel zu suchen. so wird man verlangen müssen, dass das in Frage gezogene Mittel mit der Farblösung einen in Wasser unlöslichen, stark gefärbten Niederschlag giebt. Trifft dies zu, dann wird der betreffende Stoff nur dann wirklich als Beize dienen können, wenn er auch mit dem Gewebe eine Verbindung von relativer Festigkeit einzugehen vermag. Denn die Beize muss die Vermittlerin zwischen dem Gewebe einerseits und der Farbe andererseits spielen. Es wird also viele chemische Körper geben, die sich sehr gut mit den Geweben vereinigen, aber zu den Farben keine Verwandtschaft zeigen, und ebenso werden Körper vorkommen, die mit den Farben unlösliche Niederschläge bilden, doch aber selber mit dem Gewebe nicht vereinigt werden können.

Ja es kommen chemische Körper vor, die beim Versuch im Reagensglas sehr schöne Verbindungen mit der Farbe bilden, die andererseits auch eine sehr starke Verwandtschaft zu den Geweben zeigen, die aber eigenartiger Weise, wenn sie auf die Gewebe applicirt werden, nunmehr die Verwandtschaft zu der Farbe verloren haben. Daher bringt das Aufsuchen tauglicher Beizen öfters an unerwarteter Stelle Enttäuschungen.

Zum Begriff der Beize gehört unserer Meinung nach, dass sie im Stande sein muss, sich mit dem Eiweisskörper chemisch umzusetzen, beziehungsweise sie muss solide Verbindungen mit dem Eiweiss eingehen. Daher sind alle bisher in der Histologie benutzten Beizmittel solche Körper, welche Eiweiss aus Lösungen chemisch ausfällen, und hiermit wiederum steht in Zusammenhang, dass manche unserer Fixirungsmittel an sich als Beize wirken.

Bei uns in der Histologie ist der Bedarf an Beizen im ganzen gering, da die meisten Farben sehr gut »substantiv«, d. h. ohne Beize verwendbar sind. Speciell haben die basischen Farben eine so grosse Färbekraft, dass von der bewussten Anwendung bestimmter Beizmittel gewöhnlich abgesehen wird. Gleichwohl ist in Rechnung zu ziehen, dass, wie schon oben erwähnt wurde, manche unserer Fixirungsmittel an sich als Beize wirken, und dies gerade auch für basische Farbstoffe (Chromsäure, Kaliumbichromat). Desgleichen wirken viele saure Anilinfarben, wenn mit ihnen zuerst gefärbt wird, als Beize für nachfolgende basische Farben. Auf jeden Fall liegt die Sache so, dass man für basische Farben saure Beizen und für saure Farben basische Beizen (Metalloxyde) wird haben müssen.

Zu den sauren Farben muss das Hämatoxylin gerechnet werden, welches ohne Beize überhaupt nicht anwendbar ist. Man benutzt in diesem Falle Kupfer-, Eisen-, Aluminium-, Chrom- und Vanadiumsalze, welche so gewählt werden, dass sie leicht Metalloxyde an das Gewebe abgeben. Färbt man ein Hämatoxylinpräparat mit sauren Anilinfarben nach, so bemerkt man leicht, dass jene Metalloxyde auch auf die Anilinfarbe als Beize wirken. Chromoxyd wirkt nach allen Richtungen hin als Beize, indem es bald als Säure, bald als Base fungiren kann, daher auch die Präparate aus Müller-scher Flüssigkeit so gut verwendbar sind.

Als Differenzirungsmittel versuche man bei Hämatoxylin zunächst Säuren (z. B. schwache Essigsäure, welche hinterher durch kohlensaures Alkali neutralisirt werden muss; Chromsäure), ferner Eisenalaun (differenzirt alle Hämatoxylinfarben), Oxydationsmittel (Kaliumpermanganat), Reduktions-

mittel (schweflige Säure), starke Basen (WEIGERT's Differenzirungsflüssigkeit), schliesslich auch Pikrinsäure oder Jod.

Anilinfarben kann man mit reinem Wasser meist nicht differenziren. Man versuche zunächst Alkohol oder Methylalkohol. Letzterer ist ein kräftiges Differenzirungsmittel und wirkt vorzüglich. Bei basischen Anilinfarben würde eventuell ein Zusatz von Säure zum Alkohol in Betracht kommen. An Stelle der Säure kann unter Umständen mit grossem Vortheil eine saure Anilinfarbe, besonders Orange G, verwendet werden, welches ein kräftiges Extraktionsmittel ist. Allgemein verwendbar scheint das Anilinöl zu sein, dessen Lösungskraft durch Zusatz von Xylol herabgedrückt werden kann. Auch Aceton und Eisessig wirken lösend auf Anilinfarben.

In Betracht kommt ferner die Behandlung der Farblösungen. Als Lösungsmittel nehmen wir der Regel nach Wasser, eventuell unter Zusatz von etwas Alkohol (10%), um die Haltbarkeit zu erhöhen (Antisepsis). Die Lösungen der meisten Anilinfarben, auch der Karmine, halten sich gut. Die Hämatoxyline verändern sich indessen beim Stehen stark und verderben mit der Zeit. Aus diesem Grunde ist die Anwendung der Lösungen von Haematoxylinum purissimum sehr erschwert, weil der günstige Zeitpunkt, an welchem die Lösung die richtige »Reife« hat, abgepasst werden muss (siehe die einschlägigen Artikel). Will man der Bequemlichkeit halber eine koncentrirte Stammlösung von Hämatoxylin (Hämateïn) über längere Zeit hin aufbewahren, so muss man in absolutem Alkohol oder Glycerin lösen.

Farben, die wasserunlöslich sind, werden nicht gerne benutzt. Dies ist auch theoretisch gerechtfertigt, da das Wasser durch seine dissociirende Wirkung die chemische Aktivität der Farbstoffe begünstigt. In der Regel finden 0,5—1%ige Lösungen Verwendung. Doch sei wiederholt darauf hingewiesen, dass man in vielen Fällen bei sehr viel stärkerer Verdünnung sehr viel besser färbt. So z. B. erhält man mit Gentiana und Safranin notorisch die besten Färbungen bei geradezu homöopathischer Verdünnung. Koncentrirte Anilinfarben schmieren leicht und färben inkonstant; dies ist bei verdünnten Lösungen nicht der Fall.

Jede Farbe, die man noch nicht kennt, untersuche man vor der Anwendung im Reagensglas, besonders auf Zusatz von Säuren oder Alkali. Blasst z. B. eine Farbe auf Zusatz von Alkali ab, so wissen wir, dass wir die Schnitte nicht alkalisch aufheben dürfen; wir könnten z. B. eine solche Farbe nicht mit Hämatoxylin kombiniren, da dieses der Regel nach vor dem Einschliessen alkalisch gemacht werden muss. Will man eine Mehrfachfärbung mit Anilinfarben machen, so muss man ebenso mit den betreffenden Farben vorher im Reagensglas auf einander reagiren, um zu sehen, ob sich Farbänderungen, Fällungen etc. bilden. Dass man bei jeder Anilinfarbe, die zum erstenmale in Anwendung gezogen werden soll, die chemische Konstitution nachschlägt, ist selbstverständlich; der Kenner wird aus der Strukturformel allein schon sich ein ungefähres Bild von der muthmasslichen Wirkung auf die Gewebe machen können.

Ueber die Mehrfachfärbungen nur wenige Worte. Der einzelne Farbstoff hat gewöhnlich eine beschränkte Potenz. Man färbt mit ihm bestimmte Strukturgebilde, hat aber nebenher den Wunsch, auch die übrigen Gewebselemente einigermassen gut hervortreten zu sehen. Zu diesem Zweck wird dann ein zweiter Farbstoff herangezogen. Es ist aber nicht möglich, die vielen Strukturbestandtheile gänzlich verschiedener Art, welche ein mikroskopischer Schnitt enthält, gleicher Zeit durch ebenso viele verschiedene Farben gleich deutlich und different zur Darstellung zu bringen. Je mehr Farbstoffe in Anwendung gezogen werden, desto bunter, aber auch desto unreiner und inkonstanter werden der Regel nach die Bilder. Daher

begnüge man sich, wenn möglich, mit Doppelfärbungen und vermeide die meist unnöthigen Vielfachfärbungen.

In Bezug auf die Ausführung unterscheiden wir succedane und simultane Mehrfachfärbungen. Bei den succedanen Färbungen wird meist der Zweck verfolgt, einen bestimmten Gewebsbestandtheil elektiv zu färben und das Uebrige durch eine Kontrastfarbe erkennbar zu machen (z. B. Kombination von Chromatin- und Protoplasmafärbung). Man kann dann entweder die grundirende Farbe voranschicken und die elektive Färbung nachholen (was meistens das bessere ist) oder man färbt erst elektiv, um dann eine »Nachfärbung« folgen zu lassen. Hierbei ist natürlich darauf zu achten, wie die beiden Farben miteinander reagiren; am besten wären sie so zu wählen, dass sie sich chemisch untereinander garnicht beeinflussen (z. B. Färbung von Rückenmarksschnitten in Karmin, nachfolgende Färbung der Markscheiden). Färbt man mit basischen und sauren Anilinfarben hintereinander, so kann man beinahe sicher sein, dass sie sich chemisch miteinander umsetzen. Die Gesammtwirkung lässt sich dann nicht voraussagen.

Dieser Umstand, dass saure und basische Farben mit einander reagiren und die sogenannten Neutralfarben erzeugen, kann typisch benutzt werden (siehe die einschlägigen Artikel). Hier handelt es sich nicht mehr um einfache Summation der Farbwirkungen, vielmehr werden dadurch ganz neue Wirkungen im Schnitt erzeugt, welche jede einzelne der Farben für sich allein angewendet nicht haben könnte.

Ebenso handelt es sich nicht mehr um ein einfaches Uebereinanderfärben bei der Methode der systematischen Präokkupation oder der subtraktiven Tinktion (Unna, M. Heidenhain). Hierbei handelt es sich darum, dass man die Affinität, die ein bestimmter, schwierig zu färbender Strukturbestandtheil für irgend eine Farbe hat, ausnutzen und stärker zur Geltung kommen lassen will. Dies erreicht man in folgender Weise. Man sucht sich eine Farbe *A* aus, welche den betreffenden Strukturbestandtheil *x* überhaupt nicht, wohl aber alle übrigen Theile des Schnittes in gleichmässiger und möglichst echter Weise progressiv anfärbt; diese Farbe lässt man zunächst auf den Schnitt einwirken. Dann schickt man zweitens eine Farbe *B* nach, von der man weiss, dass sie zu *x* eine wenigstens schwache Affinität besitzt. Diese zweite Farbe *B* muss aber so beschaffen sein, dass sie eine energische Ueberfärbung mit nachfolgender Extraktion erlaubt, sie muss also typisch regressiv behandelt werden können. Bei der Entfärbung werden alle Strukturbestandtheile, welche schon durch *A* ihre Affinitäten gesättigt hatten, die Farbe *B* leicht und rasch abgeben, so dass sie definitiv im Tone von *A* gefärbt bleiben, während *x*, welches durch *A* nicht tingirt wurde, für sich allein die Farbe *B* zurückbehält (Beispiel: Centralkörperfärbung durch Eisenhämatoxylin nach Vorfärbung mittels Bordeaux und Anilinblau). So haben wir dann eine elektive Kumulation der Farbe in dem gesuchten Strukturbestandtheil erreicht.

Den grössten wissenschaftlichen Werth aber haben die simultanen Doppelfärbungen nach Ehrlich oder differentiellen Kombinationsfärbungen. Bei diesem Verfahren werden die Anilinfarben nach bestimmten Principien zusammengegossen und man färbt aus dem Gemisch (vergl. besonders die Darstellung bei Pappenheim, Grundriss der Farbchemie, Berlin 1901). Die Gemische bestehen nun entweder 1. blos aus sauren Anilinfarben, oder 2. blos aus basischen Anilinfarben, oder 3. aus einem Gemenge saurer und basischer Anilinfarben. Mit A. Fischer bezeichnen wir die Gemische der beiden ersten Klassen als »homogene«, die Gemische der letzteren Klasse, welche aus chemisch durchaus differenten Körpern bestehen, als »heterogene«. Während nun die Mehrfachfärbungen aus homogenen Gemischen im

allgemeinen nur Rückschlüsse auf physikalische Verschiedenheiten der Gewebe zulassen, sind es die Färbungen aus heterogenen Gemischen, welche auch Schlüsse auf die mikrochemische Konstitution der Gewebe ermöglichen. Denn aus heterogenen Gemischen färben sich in ganz konstanter Weise bestimmte Strukturtheile im Tone der Farbbasen, andere im Tone der Farbsäuren. Man kann daher die Materie des Schnittes zunächst in basophile und oxyphile Substanz sondern und dann ferner unter Hinzuziehung physiologisch-chemischer Daten weitere Schlüsse ziehen. *Heidenhain*, Tübingen.

Färbungen, Theorie der histologischen. Eine einheitliche, für alle Fälle passende Theorie der histologischen Färbungen giebt es nicht und kann es nicht geben. Einmal sind die in Betracht kommenden Farbkörper physikalisch und chemisch ungemein verschiedene Dinge, ebenso sind zweitens die Bestandtheile der Gewebe in physikalischer und chemischer Beziehung von ungemein verschiedener Art und drittens sind die Manipulationen, welche beim Färben stattfinden, also die technischen Processe, derartig mannigfaltig, dass ein für alle Fälle giltiges Schema sich nicht entwickeln lässt. Die Frage, ob wir die histologischen Färbungen wesentlich physikalischen oder chemischen Kräften zu verdanken haben, kann also nicht in der Weise in Angriff genommen werden, dass massenhafte Einzelheiten, welche bei den mehr oder weniger komplicirten Färbungsprocessen eine Rolle spielen, auf die Wagschale gelegt und nach ihrem etwa in Betracht kommenden Gewichte abtaxirt werden, vielmehr kann es sich nur um eine Diskussion jener allgemeinen Verwandtschaft der Gewebe zu Farbstoffen aller Art handeln, welche überall hervortritt und welche wir bei unseren Färbungen in mannigfacher Art durch chemische und physikalische Mittel in specifischer Richtung zu beeinflussen suchen, um dadurch differente mikroskopische Bilder zu erzeugen. Für das Wesen dieser allgemeinen Verwandtschaft zwischen Geweben und Farbstoffen können als Vorbilder viele der gewöhnlichen histologischen Färbungen dienen, z. B. die direkte oder substantive Färbung des Protoplasmas durch die Eosine oder Rosanilintrisulfosäuren oder die direkte Färbung des Chromatins durch Thionin, Toluidinblau, Methylgrün und ähnliche basische Anilinfarbstoffe.

Diese primäre, genuine oder native Verwandtschaft der Gewebe zu Farbstoffen, welche die materielle, modificirbare Grundlage aller Färbungen bildet, wird von den einen als Folge der Wirkung physikalischer, von den anderen als Folge der Wirkung chemischer Kräfte angesehen. Sehen wir von dieser Alternative einstweilen ab, so ist es sicher, dass im einzelnen bei den so überaus verschiedenartigen Proceduren der histologischen Färbungen beides, chemische sowohl wie physikalische Kräfte der verschiedensten Art ins Spiel kommen. Niemand wird in Abrede stellen wollen, dass das Anfärben von Hämatoxylin auf chromirtes Gewebe im wesentlichen ein chemischer Process ist, niemand auf der anderen Seite wird leugnen, dass die physikalische Dichte der Gewebsbestandtheile bei vielen regressiven Färbungen von grösster Bedeutung ist.

Aber von derartigen Einzelheiten wollen wir hier absehen. Es handelt sich nur um die Frage, woher es kommt, dass jedes selbst auf die einfachste Weise vorbehandelte Gewebe (Alkoholfixirung) Farbkörper verschiedener Art an sich zu ziehen und mit einer gewissen, oft erstaunlichen Festigkeit zu binden vermag. Wenn man nun behufs Erklärung dieses Phänomens auf chemische Kräfte reflektirt, so kann man doch von einer in kurzen Worten ausdrückbaren »chemischen Theorie« der Färbungen eigentlich nicht reden. Denn jede einzelne Färbung wird für sich betrachtet werden müssen, je nach der chemischen Eigenart der ins Spiel kommenden

Farbkörper und Eiweissstoffe. Trotz dessen wird in der Litteratur allgemein von einer »chemischen Theorie« der Färbungen gesprochen, was eben nur in dem Sinne aufgefasst werden kann, dass unter diesem Titel die Anerkennung der chemischen Kräfte als wirksames Princip der Färbungen verstanden werden soll. Demgegenüber wird von anderen Seiten (A. FISCHER) das Grundphänomen der Färbung auf eine physikalische Molekularattraktion oder auf »Adsorption« zurückgeführt. Ueber das Wesen dieser Naturkraft sind wir recht wenig unterrichtet, daher mit der Adsorptionstheorie zur Zeit recht wenig anzufangen ist. Viel besser steht es um eine andere physikalische Theorie der Färbungen, welche dem Ursprunge nach von O. N. WITT herrührt und auf die Thatsache der Existenz sogenannter »fester Lösungen« zurückgeht. Nach dieser Vorstellung soll der Farbkörper sich zwischen dem Lösungsmittel und dem färbbaren Substrat nach dem Principe der Löslichkeit vertheilen. Diese »Lösungstheorie« wird uns noch weiter unten beschäftigen.

Theorie der Adsorption: Die über Adsorption vorliegenden Beobachtungen der Physiker sind noch nicht so zahlreich, die Versuchsreihen noch so wenig variirt, dass ein vollkommener Einblick in das Wesen dieser Art von Oberflächenenergie einstweilen nicht möglich ist. Das Prototyp für alle Adsorptionserscheinungen ist der Vorgang der physikalischen Kondensation gasförmiger Stoffe auf der Oberfläche fester Körper. Diese Erscheinung ist nach OSTWALD (Theoretische Chemie, pag. 338) allgemein. Feste Körper, wenn sie mit der Luft in Berührung stehen, bedecken sich mit einer Verdichtungsschicht, die aus den Bestandtheilen der Luft: Sauerstoff, Stickstoff, Kohlensäure und Wasser, besteht, in der jedoch eben diese Bestandtheile in wesentlich anderen Mengenverhältnissen als in der Luft vorhanden sind. Grosse Mengen von Gasen werden adsorbirt, wenn der feste Körper eine sehr feine Vertheilung besitzt; dies ist jedenfalls eine Folge der Vergrösserung der wirksamen Oberfläche. Platinschwamm kondensirt grosse Mengen Sauerstoff, Kohle ebenso Ammoniak. Wir unsererseits beobachteten, dass nicht vollständig verbrannte Thierkohle grosse Mengen von adsorbirtem Schwefelwasserstoff enthält, welcher sich sofort entbindet, wenn die in Wasser suspendirte und vorher schon durch Kochen luftfrei gemachte Kohle mit einer aromatischen Sulfosäure (z. B. Aseptol) übergossen wird. Durch mehrere Untersuchungen ist festgestellt (siehe G. C. SCHMIDT, Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 15, 1894), dass die Mengen der adsorbirten Gase ungefähr dem Gasdrucke porportional sind. Es kann also das HENRY'sche Gesetz, welches aussagt, dass die Gase sich in Flüssigkeiten proportional ihrem Drucke lösen, auch auf die Adsorption von Gasen auf festen Körpern bezogen werden.

Diese Feststellung trifft nicht zu für die Adsorption von SH_2 auf Thierkohle, da in der Atmosphäre in der Regel kein SH_2 vorhanden ist; auch war durch Erhitzung — Kochen — keine Spur von SH_2 entfernbar. Die Adsorption kann daher den quantitativen Verhältnissen nach keineswegs allein vom Gasdruck abhängig sein.

Gehen wir auf die Adsorption aus wässerigen Lösungen über, so kommen wir auf dasjenige Gebiet, welches im Hinblick auf die Färbungen am meisten interessiren würde. Vorbildlich ist hier die Adsorption von Farbstoffen und anderen in Lösung befindlichen chemischen Körpern auf fein vertheilte Thierkohle. Diese wird durch Verkohlen thierischer Knochen hergestellt, enthält also zunächst noch die sämmtlichen mineralischen Bestandtheile, welche darauf durch vielmaliges Ausziehen mit koncentrirter Salzsäure vollständig beseitigt werden. Alsdann muss selbstverständlich die Kohle wiederum säurefrei gewaschen werden. Gute Thierkohle ist ein äusserst voluminöses Pulver, welches nichts anderes enthalten darf als eben nur den reinen Kohlenstoff.

Die gewöhnlichen im Handel befindlichen Produkte sind verunreinigt und empfiehlt es sich, zu Versuchen solche chemisch reine Thierkohle zu beziehen, die von grossen Droguenhandlungen »pro analysi« verkauft wird.

Zieht man in Rechnung, dass der Knochen nur wenig über 12% Osseïn enthält, dass ferner in diesem wiederum der Kohlenstoff nur einen gewissen Bruchtheil des gesammten vorhandenen Stoffmaterials vorstellt, und hält man schliesslich andererseits dem entgegen, dass beim Verkohlen das Knochenstück, äusserlich betrachtet, sein ursprüngliches Volumen bewahrt, so ist klar, dass der zurückbleibende reine Kohlenstoff in äusserst feiner Vertheilung befindlich sein muss.

Es ist nun die Lösung eines festen Körpers in Wasser nach van t'Hoff ganz analog aufzufassen wie die Ausbreitung eines Gases im leeren Raum und es ist dann der osmotische Druck (bei verdünnten Lösungen) dieselbe Kraft, wie der Gasdruck und gehorcht denselben Gesetzen. Wird also eine verdünnte Lösung eines festen Stoffes in Wasser mit Thierkohle durchgeschüttelt, so wäre denkbar, dass wir hier dieselben Erscheinungen haben wie bei der Kondensation der Gase auf Thierkohle, Platinschwamm u. dergl.

Die Thierkohle adsorbirt nun nicht blos Farben, sondern auch andere in Lösung gebrachte Körper. G. C. Schmidt konnte Jod aus alkoholischer, Essigsäure, ferner Bernsteinsäure, Pikrinsäure aus wässeriger Lösung durch Thierkohle niederschlagen. Unserer Beobachtung nach kondensiren sich auf der Thierkohle nicht blos saure und basische Anilinfarben (z. B. Palatinroth, Neukoccin, Thiazinroth etc. — Safranin, Rosanilin. Methylviolett etc.), sondern auch freie Sulfosäuren (Dinitro-α-Naphtolsulfonsäure, Indigoblaumonosulfosäure). Also ist wohl zu merken. dass bei diesen Adsorptionen von Seiten der Kohle irgend eine Auswahl unter Stoffen verschiedenen chemischen Charakters nicht getroffen wird: vielmehr werden Salze und Säuren von höchst ungleicher Zusammensetzung gleicher Weise aufgenommen. Daher ist die wirksame Kraft in diesen Fällen sicherlich nicht chemischer, sondern physikalischer Natur. Indessen sind die aufgenommenen Mengen nicht proportional dem osmotischen Drucke (G. C. Schmidt), so dass das Henry'sche Gesetz hier unanwendbar wird.

Unserer Beobachtung nach sind die Adsorptionen durch Thierkohle in hohem Grade abhängig von der Natur des Mediums (Lösungsmittels). Denn es werden basische Farben wohl aus Wasser, nicht aber aus Alkohol aufgenommen, während saure Farben und freie Farbsäuren sowohl aus Wasser wie aus Alkohol adsorbirt werden. Hat man Safranin. Rosanilin oder einen ähnlichen basischen Farbstoff aus Wasser durch Kohle absorbiren lassen, so kann der Farbstoff aus dem Kohlepulver durch absoluten Alkohol wieder extrahirt werden. Hier machen sich also die Verhältnisse der Löslichkeit der betreffenden Körper ausserordentlich geltend, denn basische Farben sind in Alkohol leicht, in Wasser schwieriger löslich, während bei den sauren Farben das Umgekehrte der Fall zu sein pflegt. Wenn, wie wir berichteten, adsorbirter Schwefelwasserstoff durch freie Sulfosäuren (Orthophenolsulfosäure, Resorcindisulfosäure) sofort ausgetrieben wird, so bedeutet dies wohl, dass sich die Säure an die Stelle des Gases setzt. Diese Erscheinungen ähneln fraglos in gewisser Weise denen, die wir beim histologischen Färben beobachten.

Als Adsorptionserscheinungen sind nun ferner bezeichnet worden das Anfärben von Glas, Kieselguhr, Quarz, Schwefelmilch und ähnlichen, anscheinend ganz indifferenten Körpern. Ueber Schwefelmilch haben wir unsererseits keine Erfahrungen, da wir bei Anwendung dieses Mittels keine Anfärbungen erhielten. Dagegen müssen wir die Anfärbungen von Glas und Quarz als im Wesentlichen auf chemischer Grundlage beruhend erklären, denn es ist nicht richtig, dass diese Körper chemisch indifferent wären. Es geht dies unmittelbar daraus hervor, dass im Besonderen die Anfärbungen auf Glas durch einfache chemische Mittel in chemischem Sinne beeinflussbar sind. Es färben nämlich unter übrigens gleichen Umständen die sauren Anilinfarben Glas stärker an, wenn ein wenig Essigsäure hinzugegeben wird; hierdurch macht man einen Theil der Farbsäure frei, welche das Glas in vergleichsweise stärkerem Grade in Angriff zu nehmen imstande ist*.

* Diese Thatsache wurde schon von A. Fischer beobachtet.

Umgekehrt wird bei Alkalizusatz die Anfärbung geringer, da hierdurch die Dissociation des Farbsalzes in ungünstigem Sinne — stärkere Bindung der Farbsäure — beeinflusst wird. Haben wir eine basische Anilinfarbe, so haben wir genau entsprechend der chemischen Theorie das umgekehrte Verhalten: Zusatz von Essigsäure bewirkt geringeres, Zusatz von Alkali stärkeres Anfärben des Glases.

Die besprochenen Erscheinungen würden für sich allein der Theorie nach auch dadurch erklärbar sein, dass durch Zusatz von Säure oder Alkali jeweils die Löslichkeit des färbenden Principes in entsprechendem Sinne beeinflusst wird. Zusatz von Säure z. B. macht die in Wasser schwer löslichen (immer?) Farbsäuren frei, welche somit eine vergleichsweise höhere Tendenz zur Ausscheidung haben würden. Indessen handelt es sich besonders bei histologischen Färbungen fast immer um stark verdünnte Farblösungen und die eventuellen Zusätze von Säure oder Alkali sind minimal, so dass die veränderte Löslichkeit des färbenden Principes in praxi kaum in Betracht kommen dürfte. Beim Anfärben von Glas entstehen häufig Färbungen, welche physikalisch und chemisch in hohem Grade echt, ja mitunter kaum vom Glase abzubringen sind. Dies spricht gegen eine physikalische Adsorption.

Um die Erscheinungen der Adsorption näher zu studiren, haben wir ferner eine zusammenhängende Versuchsreihe unternommen, welche bezweckte, aus den Anfärbungen chemisch reiner pulverförmiger Körper ein Urtheil darüber zu gewinnen, ob bei den landläufig so bezeichneten Adsorptionen chemische Kräfte mit im Spiel sind. Die benutzten Pulver waren in den meisten Fällen unlösliche Metalloxyde oder Hydrate, seltener unlösliche Salze, sämmtlich von weisser Farbe. Es hat sich nun beim Durchschütteln mit den verschiedensten Anilinfarbstofflösungen herausgestellt, dass diese pulverförmigen Körper sich durchaus nicht wie die chemisch indifferente Thierkohle verhalten, vielmehr trotz ihrer Unlöslichkeit sich theils mehr als Basen, theils mehr als Säuren verhalten.

Wir geben von unseren Resultaten einen kurzen Auszug, indem wir diejenigen Mittel voranstellen, bei denen die zutage gekommene Oberflächenenergie ganz oder nahezu gleich Null ist.

Zinnoxyd ($Sn O_2$), welches in Wasser vollkommen unlöslich ist, ergiebt weder in der Kälte, noch auch in der Wärme mit den am besten anfärbenden Mitteln irgend eine Reaktion. Die im Reagensglas zu Boden sinkenden Pulver sind ungefärbt.

Antimonoxyd ($Sb_2 O_3$), ebenfalls in Wasser unlöslich, färbt sich weder aus sauren noch aus basischen Anilinfarben in irgendwie erheblichem Masse an. Die ursprünglich eingetretene geringe Oberflächenfärbung geht beim Waschen auf dem Filter sofort verloren. Hämatoxylinum purissimum ergiebt eine schwach blaue Anfärbung, ein Beweis, dass mit der »Adsorption« auch eine chemische Umsetzung — Bildung von Antimon-Hämatoxylin — verbunden ist; oder vielmehr: wir haben eine chemische Kondensation von Hämatoxylin auf unlöslichem Antimonoxyd.

Zinkoxyd ($Zn O$), wegen seiner Beständigkeit und Unlöslichkeit als Anstreicherfarbe benutzt, wird durch eine Lösung von Hämatox. puriss. sofort blau gefärbt, — Bildung des entsprechenden Zinklackes. Die gelbliche Lösung von Alizarinroth S wird durch Zinkoxyd sofort violett gefärbt; das zu Boden fallende Pulver ebenso schön violett durch Bildung des entsprechenden Zink-Alizarinsalzes. Eine wässerige Suspension von Zinkoxyd in der Kälte mit dem unlöslichen (gelblichen) Alizarinorange durchgeschüttelt ergiebt sofort orangerothe Verfärbung; beim Kochen geht die Nüance stark ins Rosenrothe. Die rothe Farbe der wässerigen Lösung von Säurealizarinblau BB schlägt auf Zusatz von Zinkoxyd sofort ins Blaue um. Sediment schön blau gefärbt. Resultat: Die als Säuren wirkenden Alizarine, ebenso das Hämatoxylin bilden mit Zinkoxyd sofort die entsprechend gefärbten Salze. Die Anfärbung des »unlöslichen« Pulvers beruht auf chemischer Umsetzung.

Die unlöslichen basischen Wismuthsalze, welche als Magisterium Bismuthi früher in der Medicin benutzt wurden, nämlich ein Gemenge von $Bi \begin{cases} N O_3 \\ N O_3 \\ O H \end{cases}$ und $Bi \begin{cases} N O_3 \\ O H \\ O H \end{cases}$ ergeben sehr bemerkenswerthe Resultate, nämlich: 1. sie färben sich im allgemeinen mit sauren Anilinfarben stark an (Chromotrope 2 R, 6 B, 2 B, 7 B; Ponceau 2 R, Tropäolin 000 No 1, Neukoccin), 2. sie erzeugen mit den Lösungen der Alizarine sofort die entsprechende Salzfarbe (Alizarinroth S, Säurealizarinblau BB); die zu Boden fallenden Sedimente zeigen ebenso die lebhafte Farbe der Alizarinsalze; 3. sie verhalten sich fast vollkommen refraktär gegen basische Anilinfarben (Methylviolett, Methylenblau), indem sie nur mit Thionin und Toluidinblau schwache Anfärbungen ergeben. Hierbei zeigt sich eine ins Rothe gehende Metachromasie:

wird die adsorbirte Farbe in Lösung gebracht, so geht sie eo ipso wiederum in den blauen Ton der originalen Farblösungen zurück. Es liegt also eine echte Metachromasie vor. Resultat: Die basischen Wismuthsalze verlieren ihren Charakter als Basen nicht durch ihre Unlöslichkeit; daher kondensiren sie die sauren Anilinfarben einschliesslich der Alizarine auf ihrer Oberfläche, wobei die Nüance der entsprechenden Salze zum Vorschein kommt. Die basischen Farben werden nahezu vollkommen verschmäht, aber nicht ganz; die diesbezüglichen Anfärbungen erklären sich aus dem Umstande, dass die Hydrate des Wismuths

$Bi \begin{matrix} // \\ \backslash OH \end{matrix}$ und $Bi \begin{matrix} / \\ \end{matrix} \begin{cases} OH \\ OH \end{cases}$ als Wismuthsäure wirken können.

Thonerdehydrat ($Al_2 [OH]_6$) ist als eine hornartige, sehr harte Masse leicht erhältlich, welche sehr fein pulverisirt gute Farbenreaktionen liefert. Theoretisch betrachtet, könnte es als Base und als Säure wirken; diese Fähigkeit, nach zwei Seiten zu reagiren, ermöglicht die weitgehende technische Anwendung des Thonerdehydrates als Beizmittel. Reaktionen mit sauren Farben: Haemat. puriss. färbt sofort stark blau an; ebenso färben alle sauren Anilinfarben stark an; die Pulver bleiben auf dem Filter beim Waschen stark gefärbt zurück. Die Alizarine kondensiren sich auf Thonerde in den lebhaften Farben der Salze. Das Gleiche gilt vom Chromotrop 7 B (Violettfärbung des Pulvers). Lichtgrün S: Das Sediment ist weiss, die darüber stehende Lösung stark entfärbt, nur leicht grün. Die Farbe wird also durch das Pulver fast vollständig zersetzt. Basische Anilinfarben: Malachitgrün und Neutralroth werden beim Durchschütteln mit Thonerde zersetzt. Methylenblau, Toluidinblau, Thionin, Methylviolett färben die Pulver stark an; beim Waschen auf dem Filter zeigt sich, dass die Pulver an der Oberfläche, dort, wo sie mit »viel« Wasser in Berührung stehen, weiss gewaschen werden, während, obwohl grosse Quantitäten von Wasser durch die Filter geschickt werden, die tieferen Schichten des Sedimentes gefärbt bleiben. Toluidinblau und Thionin färben metachromatisch, rosa, an; beim Ablösen der Farbe durch viel Wasser geht der Farbenton wieder in Blau über. Resultat: Thonerde wird leicht angefärbt und wirkt besser als Base denn als Säure. Die Salzbildung erkennt man wiederum am besten an der Wirkung der Alizarine, da die Oberflächenfarbe der Pulver nicht die Farbe der freien Alizarine, sondern die der Alizarinsalze ist. Manche Farbstoffe werden beim Durchschütteln mit Thonerde so zersetzt, als seien sie der Einwirkung einer freien Base ausgesetzt.

Der medicinische Bolus ist ein fein durchgesiebter, möglichst reiner Töpferthon. Seiner Zusammensetzung nach ist er ein saures Aluminiumpolysilikat (von der wahrscheinlichen Formel: $[SiO_3]_3 Al_2 . Al_2 O_5 H_4$). Dieses Mittel ist äusserst billig und sehr leicht aus jeder Apotheke in bestem Zustande zu beschaffen. Wegen der äusserst feinen Vertheilung seiner Masse eignet er sich zu »Adsorptionsversuchen« in hohem Grade. Basische Anilinfarben: Die basischen Farben werden beim Durchschütteln mit Bolus vollständig quantitativ ausgefällt, so dass das Lösungsmittel (Wasser) in krystallklarem Zustande hinterbleibt. Die Farblösung darf jedoch über eine gewisse geringe Koncentration nicht hinausgehen; andernfalls bleibt ein Theil des Farbstoffes in Lösung. In letzterem Falle sedimentirt der Bolus schwierig; ja es kann eine dauernde milchige Trübung hinterbleiben, welche durch die noch in suspenso befindlichen Thontheilchen erzeugt wird. Ist die Farbe dagegen vollständig ausgeschüttelt, so sinkt das Sediment im Reagensglas meist mit scharfer Grenze zurück, ähnlich wie die fallende Quecksilbersäule in der Thermometerröhre, wobei das Wasser völlig klar über dem Bodensatz stehen bleibt. Ein Kilo Bolus bindet etwa 7 Grm. Toluidinblau oder Methylviolett. Saure Anilinfarben: Es gelingt nicht, selbst sehr geringe Mengen saurer Anilinfarben (Lichtgrün F S, Säurefuchsin, Palatinroth, Naphtholgrün etc.) aus der wässerigen Lösung durch Bolus vollständig auszufällen. Demgemäss bleibt die Flüssigkeit gefärbt und ein Theil des Bolus in suspenso (vergl. oben). Und doch besteht eine geringe Verwandtschaft zu sauren Farbkörpern, da der Bolus, mit verschiedenen Alizarinlösungen gekocht, jedesmal schwache Verfärbungen im Ton der entsprechenden Salze zeigt. Auch färbt Haematox. puriss. den Thon sofort blau an. Resultat: Der Töpferthon kondensirt auf sich gemäss seiner geringen Acidität die basischen Anilinfarben. Durch saure Anilinfarben wird er wenig beeinflusst. Dass gleichwohl im Princip eine Reaktionsmöglichkeit nach beiden Richtungen hin besteht, erklärt sich in derselben Weise wie bei der Thonerde ($Al_2 [OH]_6$).

Es wurden dann ferner eine grosse Reihe von Versuchen mit Magnesiumoxyd, der Magnesia usta der Medicin (MgO), angestellt. Dieser Körper wird wohl meist als unlöslich angesehen, kann aber als in geringerem Grade löslich angenommen werden, da er in wässeriger Suspension offenbar Wasser zu addiren vermag und theilweise in Magnesiumhydroxyd übergeht ($Mg [OH]_2$). Letzteres aber ist im Verhältniss von 1 : 40.000 Wasser löslich. Diese geringe Löslichkeit genügt, um den Körper chemisch als starke Base, etwa wie CaO, erscheinen zu lassen. Magnesia usta, in wässeriger Suspension mit den Alizarinen durchgeschüttelt, ergiebt sofort die Farbe des entsprechenden Alizarinsalzes; die Chromotrope werden durch das Mittel sofort umgefärbt und der Bodensatz zeigt die Farbe der bezüglichen Lacke. Freie Farbsäuren, wie die Indigoblaumonosulfosäure und die freie Säure des Naphtolgelbs, werden sogleich gebunden. Die Triphenylmethanfarbstoffe erleiden die nämliche Zersetzung wie durch freie Basen, allerdings nicht augenblicklich, sondern durch eine allmählich sich vervollständigende Umsetzung.

Fassen wir alles zusammen, was diese Beobachtungen lehrten, so ergiebt sich, dass pulverförmige Oxyde und Oxydhydrate oder entsprechend gebaute Salze die Eigenschaft haben, so weit sie chemisch reaktionsfähig sind, Farben auf ihrer Oberfläche zu kondensiren, wobei die Art und Weise der Anfärbung sich gänzlich nach dem chemischen Charakter der mit einander reagirenden Körper richtet. Es haben also hierbei offenbar jene specifischen Erscheinungen nicht statt, welche bei der Entfärbung gefärbter Lösungen durch Thierkohle beobachtet werden, denn die Kohle nimmt ohne Wahl chemische Körper der verschiedensten Konstitution aus den Lösungen. Dies ist bei jenen pulverförmigen Körpern nicht der Fall, denn diese binden die Farben genau nach Massgabe ihrer chemischen Affinität.

Wenn nun von Analogieen geredet werden darf, so ist die Frage, ob die histologischen Färbungen mehr der physikalischen Adsorption durch Kohletheilchen oder mehr der chemischen Kondensation von Farben auf festen Körpern gleicht. Die Antwort ist nicht schwer, denn wir haben bei den Färbungen der Gewebe genau die gleiche Art der Wahlverwandtschaft zwischen dem Substrat und den Farben, wie wir sie bei der chemischen Oberflächenfärbung pulverförmiger Körper angetroffen haben. Speciell haben wir bei den Geweben ähnlich wie bei der Thonerde und den basischen Wismuthoxyden im Princip eine Reaktionsfähigkeit nach beiden Seiten hin, weil nämlich alle Eiweissstoffe von Haus aus sauer-basischer Natur sind (analog den Amidosäuren), theils mit Ueberwiegen der sauren, theils mit Ueberwiegen der basischen Eigenschaften, wiederum (äusserlich) ähnlich der Thonerde und den Wismuthsalzen. Daher nehmen die koagulirten Eiweisskörper der mikroskopischen Präparate zwar, wenn man es darauf anlegt, sowohl die basischen wie auch die sauren Farbkörper auf, bevorzugen aber unter geeigneten Bedingungen, wie jeder weiss, je nach ihrer chemischen Natur bald die einen, bald die anderen. Diese Wahlverwandtschaft der Eiweisskörper zu Farbstoffen unterschiedlicher Art bildet die Grundlage der technischen Manipulationen.

Es wird sich also aller Wahrscheinlichkeit nach bei der Anfärbung der koagulirten Eiweisskörper wesentlich um chemische Vereinigungen handeln. Nichtsdestoweniger ist es die Frage, ob nicht auch wahre Adsorption bei den histologischen Anfärbungen ebenfalls wirksam ist.

Es ist nun selbstverständlich, dass der Process der Adsorption dann vorhanden und thätig sein wird, wenn die Bedingungen der Wirksamkeit einer solchen Naturkraft vollständig gegeben sind. Haben wir in mikroskopischen Schnitten irgendwo feinste Körperchen mit begrenzbarer freier Oberfläche, besonders etwa in grosser Zahl neben einander liegend, dann wird wohl auch eine Farbenadsorption eintreten können. Hier kann man indessen nicht auf die Eiweissmoleküle als wirksames Substrat reflektiren. Das hiesse den Geltungsbereich der Adsorptionskräfte willkürlich ins Ungemessene ausdehnen; würden wir in einer Eiweisslösung eine Vereinigung der Eiweissmoleküle mit Farbstoffmolekülen nachweisen können, so würden wir ja auch nicht von Adsorption sprechen können. Es müssen vielmehr die in mikroskopischen Schnitten einer etwaigen Adsorption zugrunde liegenden Theile bereits Gruppen von Molekülen oder kleinste morphologische Strukturtheile sein. Solche Körperchen könnten eventuell die Drüsengranula, die Chromatinkügelchen etc. sein.

In der That lässt sich speciell bei den Chromatinkügelchen, z. B. der Chromosomen, zeigen, dass sie bei ihrer geringen Grösse (ca. 0,0003 Mm.) und sehr dichten Lagerung leicht mit einander verkleben, indem der Farbstoff nicht nur das Kügelchen selbst färbt, sondern auch die minimalen Interstitien zwischen den Nachbarn ausfüllt. Dann erhalten wir also eine Verklumpung

oder Konglutination der Strukturgebilde, welche gewöhnlich nicht erwünscht ist. Diese Erscheinungen, meine ich, die übrigens jedem Mikroskopiker bekannt sind, könnten wohl auf Adsorption beruhen. Vielleicht auch können wir annehmen, dass ein Theil der, wie man zu sagen pflegt, überschüssigen Farbmengen, die wir durch blosses Spülen aus dem Schnitt entfernen, in lockerer mechanischer Bindung vorhanden ist.

Theorie der festen Lösungen: van t'Hoff hat neuerdings (Zeitschr. f. physikal. Chemie, Bd. V, 1890) ausführlich gezeigt, dass den Körpern von festem Aggregatzustande eine Reihe von Eigenschaften zukommen, die man bisher nur den Flüssigkeiten zugeschrieben hat.

Als das Auffälligste wäre zu erwähnen, dass die Erscheinung der Diffusion ebenso bei festen Körpern wie bei Flüssigkeiten nachweisbar ist. Wird Zinn dünn verkupfert, so wird der betreffende Gegenstand nach einiger Zeit von selbst wieder weiss, weil das Zinn wieder an die Oberfläche dringt. Wird Platinmetall verkupfert, so wird das Platin bis ins Innere kupferhaltig. Werden zwei Cylinder von Gold und Blei fest aufeinander gepresst, so diffundirt das Gold in das Blei hinein und ist in diesem nachweisbar. Wird eine äquimolekulare Mischung von Baryumsulfat und Natriumkarbonat zusammengepresst, so ergiebt sich eine theilweise Umsetzung beider Salze; hieraus kann man rückschliessen, dass die Körper zuvor eine »feste Lösung« bildeten. In demselben Sinne können auch die Metalllegirungen und die gefärbten Glasflüsse als feste Lösungen aufgefasst werden.

Es hat nun O. N. Witt eine Theorie der technischen Färbungen veröffentlicht*, welche den Grundgedanken verfolgt, dass die Färbungen »feste« Lösungen der Farbe in der Gewebefaser seien, wobei diese Lösungen als chemische Verbindungen in weiterem Sinne zu gelten haben. Witt macht vor allem darauf aufmerksam, dass die gefärbten Gewebe den Farbenton der Lösungen, nicht aber den Ton des ungelösten Farbstoffes zeigen. Diamantfuchsin zeigt in trockenem Zustande eine sehr schön grüne Farbe; Lösungen und Färbungen sind aber gleicherweise roth. Wir möchten dieser Parallele nicht zu viel Gewicht beilegen. Feste pulverförmige oder auch krystallisirte Farbstoffe zeigen wegen ihrer Undurchsichtigkeit eine besondere Oberflächenfarbe. Man kann aber mit einem grünen Rosanilinkrystall bereits in bräunlich-röthlichem Tone auf einer matten Porzellanplatte schreiben. Hier werden die Farbtheilchen theilweise durchsichtig. Bringt man dieselbe Farbe in einen allermöglichst fein vertheilten Zustand, so zeigt sie den Ton der Lösung. Hierzu ist nur nöthig, dass man den grünen Krystall mit viel trockener Thonerde in einer Reibeschale sehr fein verreibt; dabei erhält man ein hochroth gefärbtes Pulver.

Allerdings ist nicht ganz ausgeschlossen, dass nicht hierbei eine »feste« Lösung im Sinne der modernen Chemie entstehen könnte. Wir haben nach der gedachten Richtung hin eine Reihe von Versuchen angestellt, indem wir lufttrockene Alizarine mit trockenen Metalloxyden unter möglichst hohem Druck in der Reibeschale bearbeiteten. Hierbei erhielten wir jedesmal nach einiger Zeit die Farbe der betreffenden Alizarinsalze. Trockenes Alizarin ist, wie bekannt, gelblich; mit MgO lieferte es ein karmoisinrothes Pulver, mit Thonerde ein schönes Orangeroth, mit Antimonoxyd (Sb_2O_3) oder mit Magisterium Bismuthi färbte sich die Masse gelbroth, mit ZnO bräunlich mit einem Stich ins Röthliche; nur mit SnO wurde keine besondere Farbreaktion erzielt. Eine gut reagirende Grundmasse erhält man beim Verreiben einer Mischung von Thonerde und MgO; sie giebt mit dem rothgefärbten Säurealizarinblau BB ein blaues Pulver, mit dem gelblichen Alizarinorange erhält man Orangefärbung, mit dem braunen Alizarinblau O färbt sie sich blaugrau, mit dem gelblichen Alizarinroth S dagegen röthlichviolett. In allen diesen Fällen braucht man von dem Farbkörper nur geringe Mengen, um relativ grosse Pulvermassen zu färben, also ähnlich wie bei Herstellung einer Farblösung. Für uns ist das wesentlich, dass in diesen Versuchen eine chemische Reaktion zustande kam zwischen je zwei festen Körpern. Man wird uns also den Satz: Corpora non agunt nisi fluida, der nichts anderes ist als ein antiquirter Ladenhüter einer vorsintfluthlichen Chemie, gewiss nicht entgegenhalten können, wenn von chemischen Reaktionen zwischen in Lösung befindlichen Farbkörpern und koagulirten Eiweisskörpern die Rede ist. Ob die chemische Umsetzung jener pulverförmigen Körper auf Grund einer nächstvorangegangenen »festen Lösung« erfolgte, lassen wir dahingestellt sein.

* Die Originalarbeit von Witt war dem Referenten nicht zugänglich.

Der Vorgang der histologischen Färbung würde im Sinne WITT's sich so abspielen, dass die in Wasser gelöste Farbe aus dem Lösungsmittel theilweise übertritt in das zu färbende Substrat und in diesem in Lösung geht. Die beiden Lösungsmittel, gewebliches Substrat und Wasser, würden sich der Farbe gegenüber etwa so verhalten wie zwei flüssige, nicht mischbare, aber in inniger Berührung befindliche Lösungsmittel, welche zusammen eine dritte an sich feste Substanz in Lösung übernehmen, also z. B. Schwefelkohlenstoff und Wasser einerseits, Jod andererseits. In diesem Falle bildet sich ein Gleichgewichtszustand heraus in der Art, dass das Jod sich an die beiden Lösungsmittel nach einem bestimmten Verhältnisse vertheilt. Ist die Koncentration in dem einen Lösungsmittel gleich c_1, in dem anderen c_2, so muss $\frac{c_1}{c_2}$ eine konstante Grösse sein, wie gross oder wie klein auch immer die Gesammtmenge des in Lösung gebrachten Stoffes war. Der osmotische Druck spielt hierbei schlechterdings nicht mehr diejenige Rolle, die ihm bei der Lösung von Gasen in Flüssigkeiten zukam. Denn schütteln wir z. B. eine wässerige Jodlösung mit CS_2, so geht sehr viel Jod in den Schwefelkohlenstoff über. Es wird also der osmotische Druck, da er von der Zahl der in Lösung gehenden Moleküle abhängig ist, im CS_2 gross, im H_2O klein sein. Trotzdem treten, nachdem die beiden Flüssigkeiten sich übereinander abgeschichtet haben, in der Zeiteinheit an der Grenzfläche beider ebenso viele Jodmoleküle in das Wasser über wie aus dem Wasser in den CS_2 zurück, weil ja ein Gleichgewichtszustand zwischen beiden Lösungen herrscht und der konstante Quotient $\frac{c_1}{c_2}$ sich bereits hergestellt hatte.

Da sonst nur äquimolekuläre Lösungen mit einander in osmotischem Gleichgewicht sein können, wird offenbar in unserem Beispiel der osmotische Druck durch einen zweiten Faktor beeinflusst, welcher im ganzen unbekannt ist und als »die Natur des Mediums« bezeichnet wird. Die Natur des Mediums ist nun derart, dass CS_2 Jod leicht, H_2O Jod schwer lösen kann, wonach sich jener konstante Gleichgewichtszustand zwischen beiden Medien regulirt.

Wenn wir dann ferner sehen, dass eine schwache Farblösung durch die zu färbende Materie unter Umständen vollständig entfärbt werden kann, so zeigt sich, dass in jenem Quotienten $\frac{c_1}{c_2}$ die eine Seite praktisch gleich Null wird. Dies spricht nicht sehr für die Theorie der festen Lösung, wenngleich zuzugeben ist, dass theoretisch betrachtet die Entfärbung des Lösungsmittels nicht vollständig zu sein braucht, wenn es auch für unser Auge so scheint. Auf jeden Fall wäre zu verlangen, dass die lösende Kraft der färbbaren Materie grösser sein muss als die des Wassers: diese Forderung müsste, soweit unser Ueberblick reicht, für alle oder beinahe alle histologischen Färbungen zutreffend sein. Hier sind wir in der günstigen Lage, das Experimentum crucis machen zu können.

Ad hoc angestellte Versuche haben ergeben, dass dies keineswegs der Fall ist. Es wurden vorzüglich konservirte Stücke einer (in Alkohol fixirten) Kalbsthymus in kleine prismatische Theile von 6—10 Mm. Seitenlänge zerlegt und über Nacht der Wirkung einer 0,5—1%igen Lösung verschiedener Anilinfarben ausgesetzt. Weder saure noch basische Farben konnten die Stücke durchdringen. Die meisten Farbmittel tingirten nur die äusserste Rindenschicht (Safranin, Methylviolett, Rosanilin, Thiazinroth, Congo) oder eine Zone von 1—2 Mm. (Vesuvin, Ponceau, Wollviolett, Chromotrop 7 B). Nur das Methylenblau drang mehrere Millimeter weit ein, ohne jedoch den Kern des Gewebestückes anzufärben. Dies alles zeigt, dass die Gewebe ein herzlich schlechtes Lösungsmittel im Sinne der WITT'schen

Theorie sind, und dass, wenn Schnitte sich mit der äussersten Intensität in solchen Farben zu tingiren vermögen, dies mit Wahrscheinlichkeit auf chemischer Wechselwirkung beruht. Und gerade darum, weil eine energische chemische Verwandtschaft vorhanden ist, werden die Farben gleichsam an der Oberfläche der Gewebestücke festgehalten und abfiltrirt, so dass sie nicht in die Tiefe einzudringen vermögen.

Diese letztere Vorstellung war noch einer weiteren Prüfung fähig. Da es nämlich im Sinne der modernen Chemie gerade das Wasser ist, welches durch seine dissociirende Kraft die chemische Aktivität der Farbsalze (durch Jonisation oder auch durch hydrolytische Spaltung) unterstützt, beziehungsweise hervorruft, so ergab sich die Möglichkeit, dass die nämlichen Farben in indifferenter alkoholischer Lösung dieselben Thymusstücke vollkommen zu durchdringen vermögen. Da nur die basischen Anilinfarben sich leicht in Alkohol lösen, so wurden entsprechende Versuche mit Safranin, salpetersaurem Rosanilin und Methylviolett B gemacht, welche das erwartete Resultat in glänzender Weise zeigten: Die Stücke waren in kräftiger Weise durch und durch gefärbt. Da nun der Alkohol jene basischen Farben um vieles leichter löst als Wasser, so spricht dies umso mehr gegen die Theorie der festen Lösung, da bei dieser Lage der Dinge jene Farben aus Alkohol umso weniger färbend hätten wirken dürfen. Wir schliessen also: Da der Alkohol der chemischen Aktivität hinderlich ist, diffundirt die Farbe durch das ganze Gewebestück hindurch. Auf der anderen Seite würden wir auf diese Weise nie histologische Färbungen erzielen können, da, wie bekannt, diese nur aus wässeriger Lösung möglich sind; ja für viele Anilinfarben gilt sogar der Satz, dass sie umso besser färbend wirken, je stärker sie mit Wasser verdünnt werden, eine Thatsache, die lediglich im Sinne der chemischen Theorie gedeutet werden kann.

Die Frage, ob bei den technischen Färbungen von Wolle, Seide und Baumwolle feste Lösungen entstehen oder nicht, sollte eigentlich durch quantitative Analyse exakt lösbar sein. Indessen kommen die Autoren, die sich mit derartigen Untersuchungen beschäftigt haben, zu sehr verschiedenen Resultaten. Ist der Theilungscoëfficient $\left(\frac{C_1}{C_2}\right.$, beziehungsweise nach Nernst $\left.\frac{\sqrt{C_1}}{C_2}\right)$ konstant, so dürften mit grösster Wahrscheinlichkeit feste Lösungen vorliegen. Ist er nicht konstant, so müssen wir den vielfachen sicheren Beobachtungen über chemische Vorgänge beim Färben ein vermehrtes Gewicht beilegen. Nun finden wir bei Georgiewicz Berechnungen, die mit der Theorie der festen Lösung zwar durchaus nicht ganz, jedoch leidlich übereinstimmen, während bei Schmidt dies nicht der Fall ist. Knecht und Appleyard im Gegentheile wollen sogar herleiten, dass die Seide die verschiedenen Farbstoffe im Verhältniss ihrer Molekulargewichte oder einfacher Multipla derselben aufnimmt. Knecht hat ausserdem durch quantitative Bestimmung gezeigt, dass beim Färben von Wolle oder Seide mit basischen Farbstoffen letztere gespalten werden und dass die Säure in Lösung bleibt, während die Base von der Faser aufgenommen wird. Die Untersuchungen dieses letzteren Autors verdienen sicherlich das grösste Vertrauen, während wir bei näherer Prüfung der Arbeit von Georgiewicz finden, dass sie vielerlei Widersprüche enthält, welche auf physikalischem Wege nicht auflösbar sind.

Es erübrigt noch die Frage, inwieweit etwa feste Lösungen der Farbstoffe innerhalb der mikroskopischen Schnitte beim Färben wirklich entstehen mögen. Wir wiederholen hier: Sind die Bedingungen für die Wirkung irgend einer Naturkraft vollständig gegeben, so muss sie in Bethätigung treten. Wir wissen nun, dass in den Geweben durchschnittlich etwa 75 % Wasser enthalten sind (Leber 70 %, Muskeln 77 %, Hirn 78 %, Nieren 83 %); diese Wassermengen werden theils in kapillaren Spalträumen enthalten sein, theils befinden sie sich in den intermolekularen Interstitien zwischen den Eiweissmolekeln. Diese letzteren Flüssigkeitsquantitäten können als imbibirt oder als zum Quellungszustande des Eiweisses gehörig betrachtet werden, oder man könnte von dem intermolekularen Quellungswasser auch

sagen, es sei in der festen Masse des Eiweisses in Lösung gegangen. Ein Farbstoff wird nun aus wässeriger Lösung vermöge des osmotischen Druckes oder besser des Diffusionsgefälles sich überall hin ausbreiten und wird auf diese Weise auch in die kapillären Spalten eines mikroskopischen Schnittes aufgenommen werden. Ist dies geschehen, dann könnte eventuell als eine zweite Phase der Farbstoffwanderung sich der Process der Lösung des Farbstoffes im Eiweiss, die Entstehung einer festen Lösung, anschliessen. In diesem Falle würde jetzt von Seiten der Eiweisskörper sich das geltend machen, was man als die specifische Natur des Lösungsmittels bezeichnen kann. Da wir nun bereits vollkommen sichergestellt haben, dass die Gewebe für Farben vergleichsweise schlechtere Lösungsmittel sind als das Wasser selbst, so würde durch Entstehung der festen Lösung allein niemals ein Schnitt histologisch gefärbt werden. Denn unsere Schnitte sind sehr dünn; denkt man sich eine Anilinfarbstofflösung von 0,5—1% in der üblichen Schnittdicke von 3—6 μ ausgebreitet, so würde die Lösung nicht oder kaum gefärbt erscheinen: um wie viel weniger würde das Gewebe gefärbt erscheinen, da es die Farbe schlechter löst als Wasser? Dies ist auch der Grund, warum ebenso durch Diffusion allein kein Schnitt gefärbt werden kann, wie einige Autoren meinen, da nämlich eine blosse Molekularretention des Farbstoffes in kapillären Räumen des Schnittes niemals zu einer sichtbaren Färbung führen würde, besonders da wir die Farben oft ad maximum verdünnt gebrauchen (bei Gentiana ergeben z. B. Lösungen von 0,01% ausgezeichnete Färbungen). Aus dem gleichen Grunde erklärt sich, warum man aus Lösungen gefärbte Körper, welche an sich keine Farbstoffe sind, d. h. dem Gewebe gegenüber keinen Säuren- oder Basencharakter zu entwickeln vermögen, nicht färben kann; in diesem Falle könnten nämlich eben nur physikalische Processe (Osmose, Adsorption, feste Lösung) wirksam sein. Ziehen wir einen mikroskopischen Schnitt aus einer Farbstofflösung heraus und erscheint er für unser Auge gefärbt, so hat bereits eine Farbstoffspeicherung stattgefunden, welche der Sachlage nach nicht allein durch physikalische Processe bedingt sein kann. Es kann daher die Entstehung einer festen Lösung bestenfalls auch nur das Bindeglied sein zwischen der blos osmotischen Farbstoffaufnahme einerseits und der chemischen Festlegung desselben andererseits.

Wenn wir nun aber bei Aufstellung mikroskopischer Schnitte in sehr verdünnten Farbstofflösungen gewahren, dass dieselben mitunter nach mehreren Stunden noch fast gänzlich ungefärbt sind, obwohl sie von der Farbstofflösung mit grösster Wahrscheinlichkeit bereits physikalisch vollständig durchdrungen sind, und wenn wir dann andererseits sehen, dass eben dieselben Schnitte in der nämlichen Lösung nach 24 oder 36 Stunden äusserst intensiv gefärbt sind, so kommen wir auf jenen Faktor, der gerade bei chemischen Processen eine so grosse Rolle spielt, nämlich die Zeit.

Chemische Theorie der Färbung: Unsere besten histologischen Methoden sind allein auf Grund tüchtiger chemischer Kenntnisse entstanden. Vorbildlich vor allem sind die technischen Arbeiten von Ehrlich und Weigert. Wer da glaubt, er könne ohne chemische Kenntniss der Farbstoffe und ohne Kenntniss des chemischen Verhaltens der Eiweisskörper ein guter Techniker sein, der unterliegt einer schweren Täuschung.

Dass chemische Vorgänge während des Zustandekommens der Färbung eine bald mehr, bald weniger aufklärbare Rolle spielen können, ist oft genug gezeigt worden (Weigert, Ehrlich, Unna, Pappenheim, Griesbach). Für uns soll es sich jedoch nicht um Einzelheiten handeln, vielmehr kann es uns nur auf die principielle Frage ankommen: treten Farbstoffe mit

Eiweisskörpern gewöhnlicher Weise zu chemischen Reaktionen zusammen, oder geschieht dies gewöhnlich nicht? Ist es zwingend nothwendig, dass sie miteinander reagiren, oder liegt nur eine Möglichkeit vor, die eventuell für einzelne Fälle zur Wirklichkeit wird?

Wir haben unsererseits eine grosse Reihe von Untersuchungen angestellt, welche die Beobachtung der wechselseitigen Umsetzungen zwischen Anilinfarben und in Lösung befindlichen Eiweisskörpern bezweckten. Dass die in Rede stehenden Reaktionen unter gegebenen Bedingungen immer eintreten, wird aus den weiter unten im Auszug gegebenen Daten erhellen. Wir wollen aber, ehe wir hierauf eingehen, dem Einwand die Spitze abbrechen, als könnten wohl die Lösungen der Eiweisse, nicht aber die koagulirten Eiweisskörper unserer Schnitte mit Farbstoffen reagiren.

In Bezug auf diese Frage ist vor allem daran zu erinnern, dass die koagulirten Eiweisskörper alle jene Eigenschaften noch besitzen, die den Eiweisskörpern überhaupt zukommen, vor allem die Fähigkeit, mit Basen und Säuren zu reagiren, worauf es hier wesentlich ankommt, da die zur Verwendung gelangenden Anilinfarben nicht als indifferente Körper angesehen werden können, sondern gemäss ihrer Konstitution saure oder basische Eigenschaften zu entwickeln vermögen. Sinngemäss haben wir oben bereits ausführlich gezeigt, dass auch unlösliche Metalloxyde, Hydrate etc. ihren chemischen Charakter gegenüber in Lösung befindlichen Farbstoffen geltend machen und dieselben auf ihrer Oberfläche chemisch kondensiren, so dass gefärbte Pulver entstehen. Ja es setzen sich sogar pulverförmige Anilinfarben mit pulverförmigen Metalloxyden, Hydraten etc. chemisch um, wenn sie unter Druck zusammengerieben werden (siehe oben).

Abgesehen hiervon sind die denaturirten Eiweisskörper nicht absolut unlöslich, in Wasser vielmehr in geringem Grade löslich, eine Eigenschaft, die das sogenannte Aufkleben der Schnitte mit destillirtem Wasser möglich macht; hierbei lösen sich geringe Mengen von Eiweiss und dienen als Kitt zwischen Schnitt und Glas. Diese geringe Löslichkeit könnte vielleicht mit in Rechnung gezogen werden. Denn da, wie wir sehen werden, die Anilinfarben jeweilen die ihrer chemischen Konstitution entsprechenden Eiweisskörper aus Lösungen in gefärbtem Zustande ausfällen, so könnte möglich sein, dass von den Farbstoffen vorzugsweise die in Lösung gehenden Moleküle in Angriff genommen werden, wobei zu berücksichtigen ist, dass die Eiweisskörper Kolloidstoffe sind, welche nicht diffundiren, so dass der grösste Theil der vielleicht in Lösung befindlichen Moleküle innerhalb der Schnitte an Ort und Stelle verharren müsste. Diese eben skizzirte Vorstellungsreihe würde man allenfalls einer Theorie der Färbung zugrunde legen können, wenn man schon wollte; indessen kommt man auch ohne eine derartige Hypothese aus.

Schliesslich finden wir erwähnenswerth, dass es möglich ist, unter speciellen Bedingungen rein chemische Färbungen mikroskopischer Schnitte zu erzeugen, d. h. es giebt Fälle, wo die chemische Färbung des Schnittes über allen Zweifel erhaben ist. So färbt die wasserklare, chemisch reine Lösung der Rosanilinbase, welche man durch Kochen mit Ag_2O aus dem salzsauren Salze erhält, den mikroskopischen Schnitt roth, d. h im Tone der Salze des Rosanilins an; es bilden sich hier im Schnitte Rosanilinalbuminate.

Derartige Versuche sind aus der Technik (vergl. u. a. Nietzki: Chemie der organischen Farbstoffe, III. Aufl.) durch Griesbach herübergenommen worden, dessen Versuche indessen nicht fehlerfrei sind, da er die Rosanilinbase durch Zusatz überschüssigen Ammoniaks aus den Salzen zu erhalten suchte. Hier wirkt erstlich der NH_3 sehr stark auf den Schnitt ein, dessen Reaktionsfähigkeit leidet und zweitens ist es auf diese Weise kaum möglich, die Base vollständig farblos zu erhalten. Die Befreiung der Base durch Ag_2O hat Bernthsen gelehrt. Es würden ferner die Versuche mit der Rosanilinfarbe zu Bedenken Anlass geben,

wenn nur sauer fixirte Schnitte die Anfärbung ergeben würden; indessen erhält man die Rothfärbung auch am alkohol-fixirten Materiale in ausgezeichneter Weise.

Giebt man chemisch reines Serumalbumin oder Kaseïn in trockenem Zustande in die farblose Rosanilinbase, so erhält man unmittelbar sofort eine rothe Anfärbung; also auch hier tritt sogleich Salzbildung ein, ein Vorgang, der die vorgetragene Auffassung wesentlich zu stützen geeignet ist.

Die schon erwähnte Untersuchung über chemische Umsetzungen zwischen in Lösung befindlichen Eiweisskörpern und Anilinfarben haben wir in 2 Reihen gebracht, welche sinngemäss behandelten: 1. die Reaktionen mit sauren Anilinfarben, 2. die Reaktionen mit basischen Anilinfarben.

In den »sauren« Farbsalzen ist das färbende Princip bekanntlich die Farbsäure, welche meist an Natrium oder Kalium gebunden ist. Da nun der Kreis der untersuchungsfähigen Substanzen ein geradezu riesiger ist, so haben wir uns zunächst an diejenigen Farbsalze gehalten, deren Säuren Sulfosäuren sind. Wir färben nun histologisch mit sauren Farbsalzen ausschliesslich aus sauren Lösungen, in dem wir wenig Essigsäure zusetzen. Unter diesen Umständen wird die Farbsäure theilweise frei, welche alsdann auf das Eiweiss einwirkt. Verfahren wir etwa so, dass wir Serumalbumin oder Kaseïn in essigsaure Lösung bringen und setzen ein paar Tropfen einer 1%igen Farblösung hinzu, so werden wir im allgemeinen eine Eiweissfällung erhalten: die frei gewordene Farbsäure verbindet sich mit dem Eiweiss zu einem entsprechenden Acidalbumin; das Albumin wird bei dieser Gelegenheit denaturirt und fällt in Flocken aus, welche sehr schön im Tone der Farbsalze gefärbt sind. Eine Kontrolluntersuchung zeigte, dass freie aromatische Sulfosäuren, darunter auch freie Farbsäuren, Eiweiss fällen, falls nur die Acidität der betreffenden Säuren von genügender Stärke ist (z. B. Naphthalinmonosulfosäure, Resorcindisulfosäure, Indigoblaumonosulfosäure etc.). Man würde also histologische Fixirungen zugleich mit chemischer Färbung des Gewebes erhalten, wenn man das Gewebe in die angesäuerte Lösung eines geeigneten sauren Farbsalzes einbringen würde (brauchbar wären besonders diejenigen Azofarbstoffe, welche Abkömmlinge der Naphtoldi- und -trisulfosäuren sind, ebenso auch die Abkömmlinge der Chromotropsäure).

Es hat sich herausgestellt, dass die Fällungskraft der sauren Farbsalze im allgemeinen proportional geht der aus der Strukturformel abzulesenden Acidität. Die Acidität wird bedingt: 1. durch die Zahl der vorhandenen Sulfosäuregruppen, 2. durch die Anzahl der vorhandenen Hydroxyle, 3. durch etwa vorhandene Nitrogruppen, welche ebenso wie die Hydroxyle die Acidität verstärken, 4. durch etwa vorhandene Chlor- und Bromatome, wenn sie am ringförmig gebundenen Kohlenstoff stehen, wohingegen 5. etwa vorhandene Amidogruppen ($-NH_2$) die Acidität und die Fällungskraft sehr wesentlich herabsetzen. Es wurden über 30 saure Farbsalze ganz genau durchuntersucht und geben wir demnach folgendes Beispiel:

Es fällt — ceteris paribus —

das Pyraminorange mit $(NH_2)_4$, $(NO_2)_2$, $(SO_3H)_2$ Eiweiss mit Sicherheit bis zu einer Verdünnung der Lösung von 1:200 Wasser;

das Rubin S mit $(NH_2)_3$, $(SO_3H)_3$ Eiweiss mit Sicherheit bis zu einer Verdünnung der Lösung 1:200; darüber hinaus werden die Fällungen sehr unsicher;

das Tropaeolin 000 Nr. 1 mit $(OH)_1$, $(SO_3H)_1$ Eiweiss mit Sicherheit bis zur Verdünnung von 1:1000;

das Oxaminviolett mit $(NH_2)_2$, $(OH)_2$, $(SO_3H)_2$ Eiweiss mit Sicherheit bis zur Verdünnung von 1:10.000;

das Orange G mit $(OH)_1$ und $(SO_3H)_2$ Eiweiss mit Sicherheit bis zur Verdünnung von 1:10.000;

das Ponceau 3R mit $(OH)_1$ und $(SO_3H)_2$ Eiweiss mit Sicherheit bis zur Verdünnung von 1:20.000;

das Ponceau 5R mit $(OH)_1$ und $(SO_3H)_3$ Eiweiss mit Sicherheit bis zur Verdünnung von 1:20.000

Bei den letzteren beiden Farbstoffen wurde die Fällungsgrenze noch nicht erreicht; wahrscheinlich würden sie bei noch geringerem Eiweissgehalt auch noch Fällungen zustande

bringen. — Da die Sulfosäuren im allgemeinen starke Säuren sind, so ist auch aus diesem Grunde kaum zu bezweifeln, dass sie koagulirtes Eiweiss chemisch zu beeinflussen imstande sind.

Ist die Farbsäure anders gefärbt wie das Salz, so wird das Eiweiss immer in der Farbe des Salzes ausgefällt (cf. die analogen Resultate bei Nietzki, l. c. pag. 4, betreffend die Anfärbungen der Gewebefaser durch die Amidoazosulfosäuren). Diese Thatsache hat uns veranlasst, eine Reihe ausgezeichneter Farbenreaktionen ans Licht zu ziehen, welche auf diesem Principe beruhen. Wird z. B. eine dünne Lösung von Naphtylenroth, Benzopurpurin, Congo oder ein ähnlicher roth gefärbter amido-azo-sulfosaurer Farbstoff mit verdünnter Essigsäure angesäuert, so wird die Farbsäure frei; diese ist meist dunkelblau oder sogar schwärzlich. Man hat also beim Ansäuern einen äusserst frappanten Farbenumschlag von roth nach blau bis blauschwarz. Wird nun diese angesäuerte Lösung zu einer Lösung von Serumalbumin oder Kaseïn in 10%iger Essigsäure (!) hinzugegossen, so bildet sich entweder sofort oder bei geringem Anwärmen die rothe Farbe des Salzes zurück, d. h. es entsteht ein Acidalbumin, ein Salz mit dem Eiweiss als Base, welches ebenso gefärbt ist wie das Natriumsalz der Farbsäure. Dies ist um so merkwürdiger, weil äusserst geringe Mengen von Essigsäure genügen, um die amido-azo-sulfosauren Natriumsalze zu spalten, während wir hier sehen, dass eine Eiweisslösung selbst 10% Essigsäure enthalten kann, ohne dass hierdurch die Salzbildung aus Eiweiss und Farbsäure verhindert wird. Ja noch mehr. Aus einigen dieser Eiweisssalze kann selbst durch 5%ige Schwefelsäure die Farbsäure nicht mehr abgespalten werden. So zeigt sich eine ganz besondere, energische, ohne weiteres nicht erklärbare Verwandtschaft der aromatischen Sulfosäuren zu den Eiweisskörpern, welche jedenfalls bei den Processen der histologischen Färbung eine grosse Rolle spielt.

Ausser den Sulfosäuren der Amidoazokörper giebt es noch eine grosse Reihe anderer saurer Farbstoffe, die beim Uebergang von der freien Säure zum Salz einen auffallenden Farbenwechsel zeigen. Diese liefern sinngemäss die gleichen Resultate. Untersucht wurden z. B. Methyleosin, ferner (durch die Güte von Prof. Nietzki) ein chinoider Aethyläther des Tetrabromphenolphtaleïns und die Alizarine (Alizarin, Nitroalizarin, Purpurin, Anthrapurpurin, Alizarinroth S).

Was die Reaktion der basischen Anilinfarben mit Eiweisskörpern anlangt, so ist sie einigermassen schwierig zu beurtheilen. Haben wir in leichter Weise die Reaktionen zwischen Serumalbumin und sauren Anilinfarben beobachten können, so ist in Rechnung zu ziehen, dass die Säurekapacität dieses Eiweisskörpers sehr viel grösser ist als seine Basenkapacität, daher die Farbsäure leicht aufgenommen wird. Was hierbei aus der Base des Farbsalzes, meist Natrium oder Kalium, wird, ist ohne weiteres nicht eruirbar. Man würde nun entsprechend bei der Untersuchung basischer Anilinfarben zu typischen Reaktionen kommen, wenn wir einen passenden Eiweisskörper hätten, bei dem umgekehrt die Basenkapacität grösser ist als die Säurekapacität. Dies dürfte vielleicht (!) bei den stärker sauren Eiweisskörpern, den Nukleoproteïden und Nukleïnen, zutreffen. Indessen lassen sich diese nicht gut indifferent (mit destillirtem Wasser) in Lösung bringen.

Das saure Princip der letztgenannten Eiweisskörper ist die Nukleïnsäure, welche leicht in Wasser löslich ist. Giebt man zu einer 0,5%igen Lösung eine freie Farbbase, so entsteht sofort das nukleïnsaure Salz derselben in charakteristischer Färbung. Die farblose Base des Rosanilins färbt die Nukleïnsäure sofort roth, die gelblich-bräunliche Base des Neutralroths

giebt ebenfalls sofort rothe Färbung, die rubinrothe Base des Nilblau schlägt durch Salzbildung nach blau um. Entsprechend geben alle basischen Farbsalze mit Nukleïnsäure Fällungen (A. FISCHER), welche Verbindungen der Säure mit der Farbbase sein dürften. Alle diese Reaktionen sind, wie man sieht, ungemein wichtig im Hinblick auf die Theorie der Chromatinfärbungen.

Im übrigen waren wir wesentlich darauf angewiesen gewesen, das Serumalbumin für die Reaktionen mit basischen Anilinfarben zu benützen. Seine Basenkapacität kommt zum Vorschein, wenn man zu der wässerigen Lösung eine freie Farbbase hinzufügt. Die freie Base des Rosanilins, Neutralroth und des Nilblau ergeben die entsprechenden Färbungen der Salze; es bilden sich Albuminate, die im Tone der Farbsalze gefärbt sind. Besonders prachtvoll ist die Reaktion mit der Nilblaubase, die rubinrothe Lösung der letzteren zu Serumalbumin hinzugefügt, ergiebt eine dunkelblaue Färbung im Tone der Nilblausalze. Handelt es sich indessen um eine schwache Base (Dimethylamidoazobenzol), so wird sie von dem Eiweiss nicht aufgenommen, entsprechend der relativ geringen Basenkapacität des Serumalbumins. Bei dem Zusammenwirken von Serumalbumin und irgend welchen Farbsalzen wird es sich demnach darum handeln, ob das Farbsalz enthält: eine starke Säure und eine schwache Base oder eine schwache Säure und eine starke Base oder eine starke Säure und eine starke Base.

Nehmen wir z. B. das roth gefärbte salzsaure Dimethylamidoazobenzol und bringen es mit Serumalbumin in Reaktion, so wird die Säure von dem Eiweiss sofort aufgenommen und die gelb gefärbte Base wird ausgeschieden. Hier ist die Säure stark, die Base schwach. Nehmen wir hingegen die schön roth gefärbte Lösung des Phenophthaleïnnatriums, so haben wir eine schwache Säure und eine starke Base: in diesem Falle wird umgekehrt das Natrium aufgenommen und das Phenolphthaleïn bleibt frei, weswegen sich das Reaktionsgemisch sofort entfärbt. Dagegen verhalten sich nach unserer Beobachtung eine Reihe basischer Farbsalze, die analog dem Kochsalz aus einer starken Säure und einer starken Base bestehen, dem Serumalbumin gegenüber relativ indifferent (z. B. Methylgrün, Toluidinblau), d. h. das Eiweiss vermag das Farbsalz nicht oder nur in geringem Grade zu spalten. Bringen wir hingegen mit einem eben solchen Farbsalze die Nukleïnsäure in Reaktion, so entstehen, wie erwähnt, jedesmal Fällungen (z. B. Safranin, Methylgrün etc.). Da nämlich die Basenkapacität der Nukleïnsäure bei ihrer Eigenschaft als freie Säure grösser ist als die Basenkapacität des Serumalbumins, so vermag sie auch schwer zersetzbare basische Farbsalze zu spalten. Sie übernimmt die Farbbase und bildet mit derselben ein nukleïnsaures Farbsalz. Dies ist der Grund, warum unsere besten Chromatinfärbemittel in solchen basischen Farbsalzen gegeben sind, welche nur schwer gespalten werden. Dieselben werden durch die Eiweisskörper des Protoplasmas nicht oder nur in geringem Grade beeinflusst, wohl aber von den Kernen, welche die stärker wirksame Nukleïnsäure im Chromatin enthalten. Die Nukleïnsäure reisst die Farbbase an sich und so erzeugt sich die Chromatinfärbung.

Es ist nach dem Gesagten klar, dass die Wirkung basischer Farbsalze auf Eiweisskörper nicht einem bestimmten Schema entsprechen kann, da es auf den Charakter der in jenen Farbsalzen enthaltenen Säure sowohl wie auch auf den Charakter der Base ankommt. Ebenso wird natürlich die chemische Eigenart des Eiweisskörpers in hohem Grade in Betracht kommen. Wenn wahllos beliebige basische Anilinfarben in Reaktion mit Serumalbumin gebracht werden, so entsteht im allgemeinen eine Fällung. Diese Fällung wird zum Theil Eiweissfällung sein, entweder durch Wirkung der in den Farbsalzen enthaltenen Säuren (Salpetersäure, Schwefelsäure, Salzsäure etc.),

oder, weil, wie sich feststellen liess, das Eiweiss als Säure mit den freien Amidogruppen der ungespaltenen Farbsalze in Reaktion tritt, so dass sich Verbindungen bilden, die dem Schema der Albuminate folgen und dabei die Eigenthümlichkeit haben, aus der Lösung auszufallen. Diese Fällungen sind keineswegs Aussalzungen, da sie in viel Wasser fast ausnahmslos total unlöslich sind. Jedoch ist in den Fällungen mitunter noch etwas anderes enthalten als Eiweiss, da nämlich offenbar bei diesen Umsetzungen gelegentlich ein Theil der Farbbase frei wird. Da nämlich, wie erinnerlich, die Säurekapacität des Serumalbumins nachweislich viel grösser ist als die Basenkapacität, so wird unter Umständen aus den Farbsalzen mehr von der Säure als von der Base aufgenommen und so wird dann ein Theil der letzteren frei. Dies erkennt man dann, wenn der Ton der Farbbase ein anderer ist als der Ton des Salzes. Das Reaktionsgemisch wird in diesen Fällen durch Beimischung des Tones der freien Farbbase missfarbig.

Schliesslich ist es uns also möglich, die Resultate aller Untersuchungen wie folgt zusammenzufassen:

1. Die Eiweisskörper sind äusserst leicht veränderliche, überaus reaktionsfähige Körper; desgleichen sind saure und basische Farbsalze unter geeigneten Bedingungen (eventuell Zusatz von Säure oder Alkali) in ausserordentlichem Grade befähigt, mit anderen chemischen Körpern sich umzusetzen. Daher entspricht es nur den gegebenen chemischen Voraussetzungen, wenn es gelang, thatsächlich Umsetzungen der verschiedensten Art zwischen Eiweisskörpern und Anilinfarben zu beobachten.

2. Die Eiweisskörper verlieren durch Koagulation nichts von ihrem allgemeinen chemischen Charakter. Da nachgewiesen wurde, dass unlösliche pulverförmige Oxyde, Hydrate und entsprechend gebaute Salze auf ihrer Oberfläche die Anilinfarben chemisch zu kondensiren vermögen, so werden auch die Eiweisskörper unserer Schnitte sich ebenso verhalten. Hier genügt es, auf die (chemische) Specifität vieler unserer Färbungen hinzuweisen (specifische Färbungen des Chromatins, des Tigroids, des Mucins, des Kollagens, des Elastins, des Hämoglobins etc.).

3. Die physikalischen Kräfte der Osmose, der Adsorption und der specifischen Natur des lösenden Mediums können im allgemeinen nur Hilfskräfte sein, welche den Uebergang des Farbstoffes aus der Lösung in das färbbare Substrat vermitteln.

Ueber den Chemismus der Färbungen im Einzelnen siehe: Pappenheim: Grundriss der Farbchemie etc., Berlin 1901. Aug. Hirschwald; ferner: Martin Heidenhain, Ueber chemische Umsetzungen zwischen Eiweisskörpern und Anilinfarben. Pflüger's Archiv, Bd. 90, 1902. *Heidenhain*, Tübingen.

Färbungen, intravitale. Färbung intra vitam, Vitale Färbung, Lebendfärbung.

Definition. Mit diesen Ausdrücken wird im allgemeinen jede Methode des Färbens histologischer Elemente bezeichnet, welche erzielt wurde, ohne dass das betreffende Thier vorher getödtet, und ohne dass es vorher mit irgend einem anderen Körper als dem Farbstoffe selbst behandelt worden war. Ob es sich dabei auch um eine Färbung »lebender« Zellelemente handelt, bleibt dabei ganz hingestellt. So spricht man z. B. auch von einer »vitalen« Färbung der Nervenfasern mit Methylenblau, obzwar es mindestens sehr zweifelhaft ist, ob dieser Farbstoff wirklich auch unter allen Umständen den lebenden und völlig normalen Nerven zu färben vermag. Eine scharfe Definition des Begriffes einer »vitalen« Färbung und demzufolge auch eine Einschränkung der Zulässigkeit der Anwendungsweise dieser Bezeichnung lässt sich allerdings kaum geben, und zwar deshalb

nicht, weil man ein absolut sicheres, morphologisches Merkmal des »Lebens« histologischer Elemente nicht anzugeben vermag. Am zweckentsprechendsten dürfte es daher sein, unter den obigen Ausdrücken jene Färbungsarten zu verstehen, welche am lebenden Thiere mit Erfolg vorgenommen und von diesem, ohne ersichtlichen Schaden, längere Zeit hindurch ertragen werden können. Nur jene Fälle, bei welchen diese Bedingungen erfüllt sind, sollen hier des näheren besprochen werden (die sogenannte »vitale« Methylenblaufärbung der Nerven also z. B. nicht). Es erhellt aus der hier gegebenen Begriffsdefinition, dass für diese Methode, von den vier angeführten, die Bezeichnungen »Färbung intra vitam« und »intravitale Färbung« die passendsten sind, da die beiden anderen noch darauf hinzudeuten scheinen, dass es sich hierbei auch um eine Färbung »lebender« Zellelemente handle, was aber gewiss nur zum Theile der Fall ist.

Geschichtliches. Die Geschichte der intravitalen Färbung reicht jedenfalls in viel ältere Zeiten zurück als die der Färbung abgetödteter Gewebe. Schon die Körperbemalungen, die wir bei fast allen Naturvölkern antreffen, gehören ja eigentlich auch in dieses Gebiet. Abgesehen von diesem, auf den eigenen Körper angewendeten Gebrauche haben gewiss industrielle und sonstige ökonomische Momente frühzeitig das Augenmerk auf diese Methode gelenkt. So berichtet PILLIET, dass er aus einer Conférence des Marquis TSENG erfahren habe, dass die Chinesen schon seit den ältesten Zeiten das Verfahren der Lebendfärbung der Gewebe gekannt haben. Es konnte natürlich nicht fehlen, dass eine so interessante Erscheinung, wie es die Aufnahme von Farbstoffen von Seite der lebenden Gewebe ist, auch das Interesse der Naturforscher an sich zog. So beschäftigte man sich denn auch mindestens schon im 16. Jahrhundert n. Chr. mit dieser Methode: M. LASSUS giebt — ich verdanke diese Angaben Herrn Prof. S. MAYER — in seinem Buche »Essai ou discours historique et critique sur les découvertes faites en Anatomie par les Anciens et par les Modernes« (Paris 1783), pag. 74 an: »ANTOINE MISAUD, Médecin de Paris, observa que la garance avoit la propriété de rougir les os des animaux nourris avec cette plante«; das Werk von MISAUD selbst citirt er folgendermassen: »Memorabilium utilium ac jucundorum Centuriae novem, auctore ANTON. MIZALDO. Lutetiae 1567; die citirte Stelle findet sich in Cent. 7, Art. 91, Fol. 104. In dieser Anwendung der Eigenschaft des Krapps, lebende, neu sich bildende Knochen roth zu färben, haben wir die ersten (bekannten) Anfänge der Benützung der vitalen Färbemethode von naturwissenschaftlicher Seite zu erblicken. Diese Methode selbst ist dann bekanntlich in ausgiebiger Weise zum Studium des Knochenwachsthums benützt worden, systematisch freilich erst vom 18. Jahrhundert an. Abgesehen von den Versuchen von RUTHERFORD und GIBSON waren es namentlich BELCHIER (1736) und DUHAMEL (1741—43), die sie zuerst mit bedeutendem und dauernd beachtet gebliebenem Erfolge anwandten. Von weiteren Autoren, die sich dieser Methode bedienten, wären noch u. a. FLOURENS, SERRES, DOYÈRE, unter den Deutschen LIEBERKÜHN und KÖLLIKER zu nennen (vergl. die Angaben HECKEL's und GIERCKE's).

Die heute in so glänzender Weise ausgebildete Methode des Färbens fixirter Gewebe verdankt ihren Aufschwung bekanntlich in erster Linie den ihrerzeit Aufsehen erregenden Versuchen GERLACH's (1858) mit Färbung der Gewebe durch Karminlösungen. Aber auch diese Versuche waren eigentlich durch solche mit intravitaler Färbung angeregt worden (vergl. GIERCKE). Diese wurden an Pflanzen ausgeführt und es sind hier namentlich diejenigen von S. G. OSBORNE (1856) interessant, welcher Weizen in Karminlösung wachsen liess und dann Färbung des Gewebes beobachtete. GERLACH selbst versuchte lebende thierische Gewebe zu tingiren, erhielt jedoch keine positiven Resultate. Die steigenden Erfolge der Färbemethoden abgetödteter

Gewebe haben dann die Anwendung der intravitalen Färbung zu histologischen Zwecken für eine Zeit lang fast ganz in den Hintergrund gedrängt. Dagegen ward sie während dessen von den Physiologen mit Erfolg benützt. Die erste Anregung hierzu gab die von BICHAT ausgesprochene Ansicht, dass das organische Leben durch zwei Bewegungen repräsentirt sei, von welchen die eine zersetzend, die andere neubildend auf die Gewebe einwirke (in weiterer Verfolgung dieser Idee ward behauptet, dass jedes Lebewesen sich nach etwa sieben Jahren ganz umbilde und so ein förmlich neues Gebilde repräsentire). In der intravitalen Färbung glaubte man ein Mittel zu haben, die Dauer dieser Bewegungsvorgänge zu bestimmen. MAGENDIE trat diesen Anschauungen entgegen, hervorhebend, dass die Krappmoleküle nach einer bestimmten Zeit im Körper zerlegt würden, ohne nothwendiger Weise Veränderungen des Gewebes, in welchem sie enthalten waren, herbeizuführen. Mit besonderem Erfolge ward jedoch diese Methode — allerdings nicht immer in der hier definirten Form — zum Studium der Absorptions- und Sekretionsvorgänge benützt, und hier wurden Resultate erzielt, die neben ihrer Wichtigkeit für die Physiologie auch für die Histologie bedeutsam waren. So hat, um einige Beispiele anzuführen, 1841 DUJARDIN mit Hilfe der Karminmethode gefunden, dass gewisse, namentlich ciliate Infusorien im Gegensatze zu anderen, welche von ihrer ganzen Körperoberfläche aus absorbiren, das Karmin nur von einem ganz bestimmten Punkte, einem förmlichen Munde, aus aufnehmen. Mit ausserordentlichem Erfolge ward ferner die intravitale Färbemethode zum Studium der Nierensekretion bei Wirbelthieren angewendet. Es seien hier nur die Namen R. HEIDENHAIN, CHRZONSZCZEWSKY, WITTICH genannt. In ähnlicher Weise auf Wirbellose angewendet, ermöglichte sie die genauere Feststellung von Funktionen gewisser Organe, so der MALPIGHI'schen Gefässe, der Venenanhänge der Cephalopoden u. dergl. (EISIG, KOWALEWSKY, P. MAYER, METSCHNIKOFF, SCHINDLER, SCHNEIDER, SOLGER u. a.). Erhöhtes Interesse von Seite der histologischen Forschung hat sich dieser Methode in neuerer Zeit wieder zugewendet, seitdem einmal durch die bekannte Lehre ALTMANN's den Granulis der Zelle grössere Beachtung geschenkt wurde; namentlich aber seitdem P. EHRLICH, den allerdings weniger histologische als vielmehr physiologische und chemische Motive leiteten, die Methode in zielbewusster Weise auszuarbeiten suchte. Bezüglich der seitdem erschienenen Arbeiten sei auf die Angaben bei S. MAYER, GALEOTTI und FISCHEL verwiesen.

Auf die pflanzliche Zelle, die hier (ebensowenig wie Bakterien) nicht näher berücksichtigt werden kann, wurde diese Methode in systematischer Weise zuerst von PFEFFER angewendet. (Näheres siehe unter Intravitale Färbung pflanzlicher Zellen.)

In gewissem Sinne ihr verwandt sind endlich auch jene Versuche, bei welchen farbige Körnchen selbst zur Aufnahme von Seite der Zellen gebracht werden, um z. B. die Frage zu prüfen, wie geformte Nahrungsbestandtheile in und durch den Körper gelangen; oder wie die Bewegungsvorgänge der Körnchen des Protoplasmas (»Körnchenströmung«) ablaufen; oder endlich um bestimmte Zellformen durch die Farbkorneinlagerung scharf zu kennzeichnen und bei ihrer Wanderung im Körper zu verfolgen (Versuche an Leukocyten mit Zinnober, Tusche u. dergl.). Auch Körperflüssigkeiten suchte man durch Verfütterung von Farbstoffen zu tingiren, um dann ihre Bewegung besser verfolgen zu können (Versuche von BOUISSON). Diese Methoden sollen jedoch hier, weil der gegebenen Wortdefinition nicht strenge entsprechend, ausser Betracht bleiben.

Untersuchungsmaterial. Die intravitale Färbemethode ward bereits auf ein sehr ausgedehntes Material angewendet. Sie gelang bei Bakterien, Pflanzenzellen, Protozoen und zahlreichen Arten der Metazoen. Als Objekte sind namentlich solche zu wählen, welche eine Untersuchung des gefärbten Ge-

webes womöglich am lebenden Thiere selbst gestatten, also besonders kleine, eventuell durchsichtige Seethiere oder Larven; ferner solche, deren Zellen nicht zu klein sind. Die grosszelligen Amphibien und ihre Larven dürften unter den Metazoen das günstigste Material repräsentiren.

Methodik. Die zur Verwendung gelangenden Farbstoffe können dem Thierkörper in Substanz oder in Lösung einverleibt werden, und zwar durch Einführung per os (oder per anum) oder durch Injektion in die Peritonealhöhle, in Lymphräume u. s. w. Die einfachste Methode ist die, die Thiere direkt in die Farblösung hineinzusetzen. Diese verschiedene Anwendungsweise der Farbstoffe ist für den erzielten Effekt durchaus nicht gleichgiltig: Ein Farbstoff, der aus der Lösung direkt von den Epidermiszellen absorbirt wird, kann eine andere Wirkung ausüben, wenn er denselben Zellen erst durch die Gewebssäfte zugeführt wird.

Was die Koncentration der angewendeten Lösungen betrifft, so lässt sich im allgemeinen nur sagen, dass sie viel geringgradiger ist als bei der Färbung fixirter Gewebe. Sie muss in jedem Einzelfalle des näheren erst bestimmt werden, was ja sehr leicht möglich ist. Auch hier spielt die Anwendungsart eine Rolle: Für Injektionen müssen in der Regel stärkere Lösungen angewendet werden als für die Aufnahme der Farbkörper von der Körperoberfläche aus. Mit Verdünnungen von 1: 100.000, ja bis zu Millionsteln reicht man aus, umsomehr als eine allgemeine Regel ist, dass der Farbstoff aus solchen, noch so schwachen Lösungen allmählich ausgezogen und im Gewebe aufgespeichert wird und dann sehr distinkte und klare Bilder liefert. Setzt man dagegen ein Thier sofort in eine sehr starke Lösung des Farbstoffes, so kann dies entweder schädlich auf das Leben des Thieres einwirken oder zum mindesten allzu intensive und daher wenig klare Färbung zur Folge haben. Eine sehr starke Lösung von Bismarckbraun z. B. kann Amphibienlarven baldigst tödten oder mindestens in einen Zustand absoluter Bewegungslosigkeit versetzen; die Granula in den Zellen sind dann sehr intensiv gefärbt und ausserdem zahlreiche Krystallnadeln ausgeschieden, so dass das histologische Bild bei weitem nicht so klar ist wie nach längerer Einwirkung einer für das Thier ganz unschädlichen, aber doch alle diese Effekte, wenn auch in geringerem Grade, hervorrufenden Lösung von einer viel geringeren Koncentration.

Selbstverständlich wechseln auch die Färbungsresultate mit der Verschiedenheit der Objekte der Färbung.

Die Untersuchung der gefärbten Gewebe soll, wenn möglich, direkt am lebenden Thiere vorgenommen oder wenigstens unmittelbar nach der Entnahme aus dem Thiere ausgeführt werden. Die Untersuchung am lebenden Thiere gelingt, wenn sie überhaupt möglich ist, leicht, weil die einmal eingetretene vitale Färbung auch nach Einbringen des Thieres in ungefärbtes Wasser, in welchem ja die Untersuchung vorgenommen werden muss, schwindet. Ist sie nicht möglich, so muss das betreffende Objekt aus dem Körper mit aller Vorsicht entfernt und sofort in indifferenten Zusatzflüssigkeiten untersucht werden.

Farbstoffe. Vom histologischen (nicht chemischen, siehe Overton) Standpunkte aus lassen sich die Farbstoffe ihrer Wirkung auf lebende Gewebe nach am einfachsten in drei Gruppen anordnen.

Die einen verhalten sich ganz indifferent, die Gewebe werden von ihnen, auch bei längerer Einwirkung der Farblösung, nicht gefärbt und auch nicht anderweitig beeinflusst. Dabei können die Gewebsflüssigkeiten selbst, und dadurch auch das Gewebe im ganzen, mehr oder minder den Farbenton der Lösung annehmen; sie verlieren ihn jedoch sehr bald, wenn das Objekt in reines Wasser (ohne Farbzusatz) gebracht wird. Da eine grössere, an einem und demselben Objekte durchgeführte Untersuchungsreihe bisher

nur von Amphibienlarven vorliegt (FISCHEL), so sollen hier speciell diese Verhältnisse berücksichtigt werden.

Ungefärbt und ungeschädigt können diese, und wohl auch noch zahlreiche andere Objekte, in den Lösungen folgender Farbstoffe (in der im Handel käuflichen Form!) lange Zeit gehalten werden: Acetinblau, Alkaliblau, Alizarinblau, Anilinblau, Azoblau; Bairischblau, Bleu de Lyon, Bordeaux R; Capriblau, Cörulein, Congoroth, Croceinscharlach; Diamantfuchsin; Echtblau B. A, Echtroth, Eosin; Fuchsin S; Helianthin; Indulin; Janusgrün; Nigrosin; Orange; Phloxin, Ponceau, Pyronin; Rhodamin, Roccelline, Rosanilin (Base und Chlorhydrat), Rose bengale; Safranin, — B extra, Säuregelb; Tartrazin, Tropaeolin; Uranin; Wasserblau. Die Eigenart des Thieres, sowie die Art der Einwirkung des Farbstoffes spielen jedoch hier wie bei den übrigen Farbgruppen eine wichtige Rolle. Rotatorien z. B. werden (nach SCHOLTZ) durch Kongoroth, theilweise wenigstens, mit Erfolg intravital gefärbt; nach GALEOTTI werden durch denselben und noch durch einige andere von den genannten Farbstoffen — nach Injektion in die Bauchhöhle — bei erwachsenen Amphibien gewisse Granulaarten gefärbt; dasselbe gilt vom Janusgrün (MICHAELIS). Ueberhaupt sind bei verschiedenen Objekten die Grenzen zwischen den hier unterschiedenen drei Gruppen, soweit sie nicht durch gewisse, später zu erwähnende chemische Gesetze fest bestimmt sind, einigermassen variabel.

Zur zweiten Gruppe kann man jene Farbstoffe rechnen, welche, allerdings in verschiedenem Grade, für lebende Organismen giftig sind, dabei die Gewebe entweder ungefärbt lassen oder aber auch mehr oder minder zu färben vermögen. Doch ist in letzterem Falle der Färbungseffekt wesentlich verschieden von demjenigen der zur dritten Gruppe gehörenden vital färbenden Stoffe: die Färbung ist zumeist eine diffuse oder ganz ungleichmässige; Zellgranula können gefärbt sein, doch kaum in jener typischen Art wie bei den vital färbenden Stoffen. Für Amphibienlarven erweisen sich als giftig: Acridinorange, Alizarin, Anilgrün, Anilingelb, Anilinviolett, Auramin; Baslerblau, Benzylblau, Bindschedler'sches Grün, Brasilin, Brillantgrün; Chrysoidin, Korallin, Cyanin; Gentianaviolett, Goldorange; Hofmannsviolett; Krystallviolett; Lauth'sches Violett; Magdalaroth, Malachitgrün, Metanilgelb, Methylgrün, Methylviolett; Naphtylamingelb; Pfauenblau; Regina-, Rubinviolett; Säurebraun; Viktoriablau. Vom Alizarin, dem wirksamen Princip des Krapps, ist zu bemerken, dass es, vorsichtig angewendet, die neu sich bildende Knochensubstanz färbt, ohne die Thiere zu tödten; in stärkerer, schädlicher Lösung erscheinen ausserdem noch bei seiner Einwirkung in den Intercellularlücken zahlreiche, kleinste, braunrothe Körnchen. Bei Injektion in die Bauchhöhle erwachsener Thiere können (nach Angabe GALEOTTI's) auch einzelne der hier in der ersten Gruppe aufgezählten Farbstoffe, wenn sie in stärkerer Lösung (0,75—1%) verwendet werden, giftig wirken, und auch einzelne Granula färben. Es ist wahrscheinlich, dass es sich in diesen Fällen um absterbende oder bereits abgestorbene Gebilde handelt. Die Angabe, dass die »Widerstandskraft« der Zellen desto grösser sei, je giftiger ein Körper ist, bedarf noch einer näheren Prüfung. Neben Farbstoffen, welche wahrscheinlich für alle Thierarten giftig sind (z. B. einige der Violettfarben, Bindschedler'sches Grün u. a. m.), giebt es auch solche, welche es nur für gewisse Thiere sind. So z. B. wirken manche Rosanilinderivate auf Echinodermeneier besonders giftig; Cyanin erweist sich für Leukocyten und Protozoen (CERTES) weniger (wenn überhaupt) giftig als für andere Organismen.

Zur dritten und letzten Gruppe sind hier jene Farbstoffe zusammengefasst, welche sich in ganz vorzüglicher Weise und wohl auch ganz allgemein zur intravitalen Färbung eignen. Diese Farbstoffe sind:

1. Methylenblau, besonders in Form des Methylenblaurektifikat. $(CH_3)_2N-C_6H_3<^{S}_{N}>C_6H_3-N.(CH_3)_2$. Es wird auch in stärkerer Lösung

$\quad$ Cl

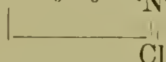
gut vertragen und von gewissen Zellelementen festgehalten. Doch wird es an Eignung zur intravitalen Färbung im allgemeinen von den nachfolgenden Farbstoffen übertroffen.

2. Bismarckbraun (Vesuvin, Manchesterbraun, Phenylenbraun), $C_6H_4<^{N=N-C_6H_3(NH_2)_2.}_{N=N-C_6H_3(NH_2)_2.}$ In starker Lösung kann es schädlich wirken, schwache Lösungen können dagegen längere Zeit ohne Schaden ertragen werden und genügend intensive Färbung hervorrufen, welche Färbung nur langsam schwindet.

3. Neutralroth, $(CH_3)_2N-C_6H_3<^{N}_{N}>CH_3.C_6H_2.NH_2$. Dieser von Ehrlich zuerst angewendete, zur Gruppe der Eurhodine gehörende Farbstoff scheint der geeignetste zur intravitalen Färbung zu sein. Es wird sehr gut vertragen, liefert sehr schöne und distinkte Bilder und wird (nach vollzogener Färbung) durch lange Zeit vom Organismus festgehalten.

Das dem Neutralroth sehr nahe stehende Neutralviolett, $(CH_3)_2N-C_6H_3<^{N}_{N}>C_6H_3.NH_2$, färbt zwar ähnlich, dürfte sich aber im allgemeinen kaum so gut bewähren wie Neutralroth, da es weniger gut vertragen und behalten zu werden scheint.

4. An Eignung kommt dagegen dem Neutralroth sehr nahe das Nilblau, ein Oxazin, $(CH_3)_2N.C_6H_3<^{O}_{N}>C_{10}H_5.NH_2$; und zwar sowohl als



Cl

Nilblauchlorhydrat wie auch als Nilblausulfat. Doch werden vielleicht beide Farben von dem einmal gefärbten Thiere (in reinem Wasser) leichter abgegeben als das Neutralroth.

Ausser diesen zur intravitalen Färbung wohl geeignetsten Farbstoffen können eventuell auch noch andere gute Dienste leisten; es hängt dies sehr vom Material ab. So wurden z. B. mit Erfolg zur Färbung intra vitam verwendet: Wässerige Hämatoxylinlösung bei Amöben und Heliozoen (Brandt); Cyanin (Chinolinblau) bei Infusorien (Certes); Kongoroth bei Rotatorien (Scholtz); Janusgrün bei Amphibien (Michaelis); Dahlia, Eosin, Gentianaviolett, Anilinschwarz u. a. m. können unter gewissen Bedingungen und in einzelnen Fällen vielleicht auch brauchbare Resultate liefern, doch wohl — nach den vorliegenden Angaben — kaum jemals so gute wie die zuerst genannten Farbstoffe.

Färbungseffekte. Charakteristisch für die intravitale Färbung ist die Annahme des Farbstoffes lediglich von Seite gewisser Gebilde des Zellleibs. Es liegen allerdings sowohl für die Pflanzenzelle (Campbell), als auch für Protozoen und einige Metazoen (vergl. die bezüglichen Referate und eigenen Resultate bei Przesmicky und Prowazek) Angaben vor, nach welchen auch der lebende Kern mit manchen Stoffen färbbar sein soll. Bei Pflanzen und Protozoen (wenigstens für einige Arten der letzteren, aber — was bemerkenswerth ist — wohl nur hinsichtlich ihres Makronucleus) scheint dies zweifellos möglich zu sein; bei Metazoen aber handelt es sich bei den vorliegenden Angaben aller Wahrscheinlichkeit nach entweder nur

um eine einfache, diffuse Durchtränkung der Kernflüssigkeit mit der Farblösung oder aber überhaupt um keine Färbung des lebenden Kernes. Wenn z. B. BETHE angiebt, dass sich bei lebenden Ctenophoren die Kerne der Zellen der Ruderplättchen färben, so ist es sehr wohl möglich, dass hier eine Färbung des todten Kernes vorlag. Denn wenn auch die Wimpern der Zelle schlagen, so ist damit noch nicht erwiesen, dass der Kern noch »lebt«, im Gegentheile, es ist aus anderweitigen Versuchen bekannt, dass die Cilien der Flimmerzellen auch dann noch lange Zeit hindurch schlagen können, wenn sie vom Kerne und dem grössten Theile des zugehörigen Zellleibes vollkommen getrennt sind. Dass die von SCHINDLER behauptete Kernfärbung bei Insekten eine vitale ist, hat schon KOWALEWSKY mit Recht bestritten, und die für Spongien geltenden Angaben (LOISEL) bedürfen noch einer näheren Prüfung. In keinem Falle liegt aber jene distinkte Färbung ganz bestimmter Elemente wie im Zellleib vor, es handelt sich nur um eine diffuse Tingirung, welche z. B. die Chromatinschleifen nicht hervorhebt.

Was sich nun im Zellleibe färbt, das sind zunächst regelmässig kreisrund geformte Gebilde, die man als Granula bezeichnet, und die ohne Vitalfärbung an der lebenden Zelle entweder gar nicht oder nur undeutlich hervortreten. Es scheint, dass diese Granula entweder von verschiedener chemischer Natur oder von verschiedener chemischer Reaktion sind, denn sie verhalten sich verschiedenen Farbstoffen gegenüber (oder zu verschiedenen Zeiten) nicht in gleicher Weise. Das tritt auch deutlich hervor, wenn man mit zwei oder mehr Farbstoffen färbt, also eine Doppel- oder Mehrfachfärbung — durch gleichzeitige oder sukcessive Einwirkung der Stoffe — ausführt. Oft tritt dann eine besondere Elektivität der verschiedenen Granulaarten klar zutage.

Ausser diesen Granulis nehmen auch andere, in der ungefärbten lebenden Zelle mehr oder weniger deutlich sichtbare Elemente die Farben an. So z. B. manche Pigmentkörnchen, von Flüssigkeit erfüllte Vakuolen, eigenthümliche Körnchen in und zwischen quergestreiften Muskelfasern, schollenartige Gebilde im Knorpel und im Bindegewebe, besonders der Kiemen, sowie die verschiedenartigsten Einschlüsse des Zellleibs. Die Form und Färbung dieser Gebilde variirt naturgemäss ausserordentlich.

Sehr eigenthümliche fadenartige Elemente sind von MICHAELIS in Drüsenzellen dargestellt worden. Doch ist es wahrscheinlich, dass sie aus Körnchen zusammengesetzt sind, dass also auch hier eine Granulafärbung vorliegt. Aehnliche Fäden beobachtete KOWALEWSKY nach Injektion von 1%iger Indigokarminlösung in den Zellen der Harnkanälchen von Astacus; wahrscheinlich jedoch sind es hier die reihenartig angeordneten Farbkörnchen selbst.

Bei einigen Farbstoffen (Bismarckbraun, Nilblausulfat und -chlorhydrat) kommt es neben der Färbung von Zellelementen oft auch noch zu einer Abscheidung farbiger Krystallnadeln in und zwischen den Zellen (FISCHEL). Diese Nadeln können beim Bismarckbraun eine bedeutende Grösse aufweisen. Ihre Zahl, Form und Anordnung ist in den verschiedenen Zellarten eine verschiedene; doch beeinträchtigen sie, auch wenn sie in grosser Zahl ausgeschieden werden, die normalen Funktionen in keiner ersichtlichen Weise. Nach Anwendung von Indigokarmin wurde die Ausscheidung blauer Krystalle unter den Zellen der Harnkanälchen bei Astacus (KOWALEWSKY), sowie in den MALPIGHI'schen Gefässen der Insekten und in den Ausscheidungszellen des BOJANUS'schen Organs (SCHNEIDER, KOWALEWSKY) beobachtet.

Was die Natur der sich färbenden Gebilde betrifft, so ist zunächst zweifellos, dass viele von ihnen nur »todte« Elemente darstellen, also z. B. Abfallsprodukte des Stoffwechsels, Nahrungsbestandtheile, Dotterelemente, in lebenden Leukocyten die durch Phagocytose aufgenommenen Substanzen

eiweissartiger Natur (PLATO) u. a. m. Viele von ihnen mögen vielleicht auch durch die Einwirkung des Farbstoffes selbst erst entstehen, also nicht in dieser Gestalt und Art in der normalen Zelle präformirt enthalten sein, sondern ausgefällte abgestorbene (oder absterbende) Körper darstellen. Jene erwähnten Krystallnadeln ferner sind wohl Gebilde, welche aus der Farblösung durch die Einwirkung gewisser in den lebenden Geweben enthaltenen chemischen Körper ausgefällt werden. Alle diese Körper repräsentiren also zumeist keine integrirenden Bestandtheile der lebenden Zelle, sondern nur zeitweilig und in wechselnder Art und Gestalt in ihr vorhandene Gebilde.

Neben ihnen aber finden sich in Form der »Granula« Elemente, denen ein anderer Charakter zuzuschreiben ist. Sie sind einmal präformirt in der Zelle enthalten; sie finden sich ferner konstant und in anscheinend unveränderlicher Form im Zellleib vor; sie zeigen den Farbstoffen gegenüber eine viel hochgradigere Elektivität auf als die anderen Gebilde, und finden sich endlich in einzelnen Zellarten in typischer Form und Anordnung vor. Sie stellen also einen integrirenden Bestandtheil des Zellleibs dar, und bilden wahrscheinlich einen Theil des »lebenden« Protoplasmas. Da sich jene besonders hervorgehobenen Farbstoffe bei allen mit ihnen untersuchten Thieren als positiv wirkend erwiesen haben, so scheint in diesen mit ihnen färbbaren Granula ein allen thierischen Plasmaarten gemeinsamer Bestandtheil vorzuliegen.

Es muss in jedem Einzelfalle versucht werden, diese von einander wesentlich verschiedenen Gruppen von Zellelementen wohl von einander zu sondern, was allerdings nicht immer leicht oder möglich sein dürfte. Ein sicheres Merkmal für das »Leben« dieser morphologischen Elemente lässt sich eben nicht angeben. Die Ansichten darüber, was für eine Färbung hier vorliegt — ob überhaupt eine vitale oder nicht — sind denn auch sehr getheilt. Die Möglichkeit einer echten Lebendfärbung kann kaum bestritten werden, vieles spricht für ihre Wahrscheinlichkeit. Sicher ist jedenfalls, dass auch intensive intravitale Färbung die Lebensfunktionen nicht hindert, selbst wenn sie monatelang anhält; Zelltheilungen und Regenerationen gehen ungehindert von statten, ebenso die Weiterentwicklung von Eiern und Embryonen. Hinsichtlich der Funktionen innerhalb der gefärbten Zellen selbst ist besonders eine Angabe von APATHY von Interesse. Bei Hirudineen beobachtete er oft, wie sich einzellige Drüsen entleerten, und dann zerflossen die (gefärbten) Granula »zu einem blaugefärbten Schleim, offenbar wollten sie mich davon überzeugen, wie sehr solche »Bioblasten« das eigentlich Lebendige in der Zelle sind«.

Diese Bemerkung führt uns zu der Frage, wie sich jene intravital färbbaren Granula zu den mit den ALTMANN'schen Fixir- und Färbemethoden darstellbaren, nach der Lehre dieses Autors so bedeutungsvollen Elementen (»Bioblasten«) verhalten. Ein entsprechender Vergleich, der natürlich mit den beiden Methoden an derselben Zellart durchgeführt werden müsste, steht noch aus. Es ist aber zu erwarten, dass er eine wenigstens partielle Analogie zwischen den mit der ALTMANN'schen und den mit der intravitalen Methode darstellbaren Granula ergeben wird. So z. B. ist das Bild, das quergestreifte Muskelfasern bei diesen beiden Methoden liefern, ein sehr ähnliches, und es ist ferner auffällig, dass bei beiden Methoden keine Färbung des Zellkernes (wie im Zellleib) auftritt.

Ergänzend sei auch noch der Anschauung ARNOLD's über das Wesen der intravital färbbaren Granula Erwähnung gethan. Sie sollen nach diesem Autor, zum grösseren Theile wenigstens, zu Strukturelementen der Zellen in Beziehung stehen und körnige Ausscheidungsprodukte der von ARNOLD angenommenen »Plasmosomen« darstellen. Sie sollen nicht nur untereinander, sondern auch mit Strukturelementen, z. B. Fäden in der Zell-

substanz, zusammenhängen und in letztere eingebettet sein. Diese Angaben bedürfen noch einer genaueren Prüfung.

Im ganzen lässt sich heute als sicher nur der Satz vertreten, dass die mit der intravitalen Färbemethode darstellbaren besonderen Granula ein ständiges, in einigen Fällen das hervortretendste Bauelement in der Zellarchitektur repräsentiren, also Gebilde von vitaler Bedeutung, und, wenn auch keine Elementarorganismen (im Sinne ALTMANN's), so doch wahrscheinlich Elementarorgane der Zelle vorstellen.

Giebt es nun kein Mittel, die intravital erhaltenen Bilder auch zu fixiren? Es wurde manches versucht, um diesen Zweck zu erreichen, besonders da es gelungen ist, für Methylenblau, Gentianaviolett u. a. m. fixirende Flüssigkeiten zu ermitteln. Aber in allen diesen Fällen handelt es sich nicht um vitale Färbungen, denn hier tingiren sich auch die Kerne. Das Ausbleiben der Kernfärbung (Granulafärbung) kann aber — bei Metazoen wenigstens — geradezu als das histologische Charakteristikon einer gelungenen intravitalen Färbung bezeichnet werden. Und es ist vielleicht von vornherein als aussichtslos zu bezeichnen, ein Mittel zu suchen, das eine vitale Färbung dauernd fixiren sollte. MARTINOTTI hat für Methylenblau Nachbehandlung mit Jodjodkalium, Pikrinsäureammoniak und Glycerin, für Bismarckbraun 2%ige Chromsäure empfohlen; ich habe die verschiedensten Flüssigkeiten daraufhin versucht: die Resultate sind durchwegs unbefriedigende. Eine dauernde Erhaltung des reinen Bildes der vitalen Färbung ist nicht zu erreichen, das Resultat solcher Versuche ist — mit den bisherigen Methoden wenigstens — früher oder später dasjenige, welches man bei direkter Einwirkung der Farbstoffe auf die todten (aber vorher nicht fixirten) Gewebe erhält. Diese Wirkung ist dadurch gekennzeichnet, dass sich jetzt gerade der Kern, und zwar intensiv, diffus färbt, während die Granula des Zellleibes zumeist ganz ungefärbt erscheinen — also eine totale Umkehr des früheren histologischen Bildes. Im Verlaufe des Absterbens der Zellen werden Aenderungen der Farbentöne der Granula — wahrscheinlich infolge ihrer sich ändernden chemischen Reaktion — beobachtet. Das verschiedene Verhalten von Kern und Zellleib deutet auf einen tiefgehenden chemischen Unterschied zwischen beiden und auf eine Umkehr desselben nach Eintritt des Todes der Zelle hin. Nach dem Tode färben übrigens alle, auch die der lebenden Zelle gegenüber indifferenten Farbstoffe, wie schon GERLACH an einem schönen Versuche zeigen konnte: Exemplare von Ascaris acuminata, die in einer sonst indifferenten Farblösung sterben, tingiren ihre Gewebe sehr bald intensiv; die in solchen abgestorbenen Thieren vorhandenen Eier und Embryonen aber leben und entwickeln sich lange Zeit weiter, bleiben aber während dessen, weil lebend, ungefärbt in dem gefärbten todten Mutterthier.

Physikalisch-Chemisches über die intravitale Färbung.

Die physikalische Ursache der vitalen Färbung ist nicht vollständig klargelegt, wenn auch wohl der Diffusion die Hauptrolle dabei zufällt. Man kann sich vorstellen, dass der Farbstoff theils entsprechend dem Koncentrationsgefälle durch Diffusion in die Zellen eindringt, theils sammt seinem Lösungsmittel von den Zellen selbst eintransportirt wird; »innerhalb der Zellen verbreitet er sich wesentlich durch Diffusion auf die verschiedenen Zellbestandtheile, die je nach ihrer verschiedenen Beschaffenheit verschieden gute Lösungsmittel für ihn darstellen . . . . Die Granula sind offenbar ein brillantes Lösungsmittel und entsprechend einem hohen Theilungscoefficienten zwischen ihnen und dem Protoplasma . . . . sammelt sich viel Farbstoff in den Granula an« (HÖBER). RHUMBLER erscheint die Annahme prüfungswerth, dass der Protoplasmaleib der Zellen die einzelnen Farbstofftheilchen mit seiner Oberflächenschicht auf Grund gewisser Importgesetze einzeln in sich

hineinzieht, »und dass dann durch Diffusion im Aussenmedium die von dem Protoplasmaleib weggenommenen Farbtheilchen stets durch neue ersetzt werden, so dass die Farbstoffaufnahme von Seite der Zelloberfläche so lange fortgesetzt im Gange bleibt, als noch Farbstofftheilchen durch Diffusion (im Aussenwasser, also nicht Diffusion im Zellleib) an die Zelloberflächen herangebracht werden«. Ehrlich hat auch die Ansicht ausgesprochen, dass diese Oberflächen von Poren durchsetzt oder als Siebe von verschiedener Maschenweite zu denken seien. Von dem Verhältnisse zwischen dieser Porengrösse (beziehungsweise Maschenweite) und der Grösse des Farbkornes solle es dann mit abhängen, ob und wie viel Farbstoff ein Gewebe aufzunehmen vermag.

In chemischer Hinsicht wäre zunächst zu betonen, dass es sich bei der intravitalen Färbung der Granula nicht um einen einfachen Niederschlag oder um eine einfache Adsorption an der Oberfläche, sondern um eine Lösung des Farbstoffes in einer besonderen, fettartigen, flüssigen oder festen Substanz handelt. Doch mögen bei der Färbung der übrigen, so verschiedenartigen Zelleinschlüsse auch andere Momente in Frage kommen.

Die Beziehung zwischen der chemischen Konstitution der Farbstoffe und ihrer Aufnahme von Seite der lebenden Zelle betreffend, seien zunächst jene Sätze hier angegeben, welche sich aus dem Verhalten von Amphibienlarven zu den hier in drei Gruppen zusammengefassten Farbstoffen ergaben: Nur basische Farbstoffe, keine sauren, werden von der lebenden Zelle zur Granulafärbung angenommen, und zwar solche basische Farbstoffe, welche entweder den einfachen Ammoniakrest NH_2 enthalten, oder einen solchen, in welchem der Wasserstoff durch ein der fetten Reihe angehöriges Alkoholradical (Methyl oder Aethyl) vertreten ist; der Eintritt von Methyl ruft entweder das Färbungsvermögen erst hervor oder verstärkt ein schon vorhandenes; im Gegensatze hiezu geht denjenigen basischen Farbstoffen das Färbungsvermögen ab, welche an Stelle des einfachen Ammoniakrestes oder neben $N(CH_3)_2$ einen Anilinrest enthalten. Einen weiteren Einblick in die chemischen Ursachen des intravitalen Färbungsmodus gewinnen wir durch die Untersuchungen Overton's, die zu folgenden Schlüssen führten*:

Sämmtliche basischen Anilinfarben in der Form ihrer käuflichen Salze werden von der lebenden Pflanzen- und Thierzelle äusserst leicht aufgenommen. Die Sulfosäurefarbstoffe dagegen werden der grossen Mehrzahl nach gar nicht, Methylorange und die Tropaeoline sehr viel langsamer als die basischen Anilinfarben aufgenommen. Die Salze der basischen Anilinfarben gelangen in unzersetzter Form in die lebende Zelle. Die osmotischen Eigenschaften der letzteren beruhen auf einer Imprägnirung der Plasmahaut

* Overton's Angaben über das Verhalten der lebenden Zelle zu den einzelnen Farbstoffen weichen zum Theile von der hier gegebenen Darstellung ab. Diese letztere wurde deshalb beibehalten, weil sie die für den Histologen allein wichtige nähere morphologische Wirkungsweise der Farbstoffe, und zwar auch noch an einem bestimmten, genau untersuchten Objekte berücksichtigt. Overton giebt überhaupt nicht näher an, auf welche speciellen Objekte sich seine Angaben beziehen — dass alle Pflanzen- und Thierzellen in gleicher Weise auf die verschiedenen Farbstoffe reagiren, ist doch gewiss sehr fraglich — und er unterscheidet auch nicht die verschiedenen (histologischen) Wirkungsweisen der Farben, sondern spricht nur davon, ob letztere »aufgenommen« werden oder nicht. Für den Histologen ist aber gerade die besondere Art dieser Aufnahme von Wichtigkeit; eine Aufnahme, die lediglich in einer einfachen Lösung der Farbe in der Gewebsflüssigkeit besteht, oder die das Thier schädigt, ist für ihn werthlos. Für Overton war natürlich eine besondere Unterscheidung dieser dem Histologen wichtigen Umstände nicht nothwendig, da seine Untersuchung zu rein chemischen Zwecken unternommen wurde. In dieser Hinsicht gelten seine Schlussfolgerungen wohl ganz allgemein, sie wurden daher auch hier mitgetheilt, die zum Theile speciellen, aus meinen Untersuchungsergebnissen gezogenen aber auch nicht verschwiegen. Einzelne Widersprüche sind wohl darauf zurückzuführen, dass mir (also auch jedem anderen Histologen) unter den im Handel käuflichen Farben nicht Basen, sondern Sulfosäuren vorlagen.

durch Cholesterine und Lecithine und dem auswählenden Lösungsvermögen dieser beiden Körper für die verschiedenen Verbindungen: Alle käuflichen Salze der basischen Anilinfarben sind in diesen beiden Stoffen löslich, während die Sulfosäurefarbstoffe (mit wenigen Ausnahmen) völlig unlöslich in ihnen sind. Die gespeicherten Farbstoffe sind in den Zellen in Form einer starren Lösung vorhanden. Die Speicherung ist nichts anderes als die Vertheilung der Farbstoffe zwischen einem flüssigen und festen Lösungsmittel, wobei das letztere das viel grössere Lösungsvermögen für die betreffenden Farbstoffe besitzt. Alle aromatischen Oele, welche grössere Mengen von Phenolen oder Aldehyden (z. B. über 25%) enthalten, speichern die Farbstoffe, während solche aromatische Oele, welche zum grössten Theil aus Terpenen oder einem Gemisch von Terpenen, Phenoläthern, Estern u. dgl. bestehen, kein solches Speicherungsvermögen aufweisen. Diese werthvollen Ermittlungen OVERTON's gewähren uns einen klaren Einblick in den Chemismus bei der intravitalen Färbung. Im Detail bedarf allerdings die auffällige Elektivität gewisser Zellarten und Zellbestandtheile zu gewissen Farben noch einer genaueren Aufklärung. Die Thatsache, dass gewisse Farben die lebende Zelle überhaupt nicht zu färben vermögen, oder, wie man dies auch ausgedrückt hat, dass die lebende Zelle sich gegen die Aufnahme der Farbe »wehrt«, ist nach OVERTON's Ergebnissen leicht zu erklären. Die verschiedene Wirkung eines Farbstoffes, je nachdem er vom Darme oder von der Haut oder von einer anderen Stelle aus in den Körper gelangt, wird wohl auf eventuelle Zersetzungen desselben und auf die verschiedenen Passagehindernisse, die er an den zuerst ihm begegnenden Geweben findet, zurückzuführen sein.

Leistungsfähigkeit der intravitalen Färbemethode.

Die intravitale Färbemethode kann histologisch und physiologisch werthvolle Resultate ergeben. In ersterer Hinsicht kann sie — bei Protozoen und Pflanzen — zur besseren Hervorhebung des Kernes in der lebenden Zelle dienen, Inhaltseinschlüsse des Zellleibs deutlicher ersichtlich machen, die verschiedene Art und Zahl der Granula in verschiedenen Zellarten, und damit morphologische Unterschiede, kennen lehren; die Verfolgung der Schicksale von in der Eizelle enthaltenen Granula während der Weiterentwicklung des Eies, beziehungsweise von ganzen Zellgruppen während der Embryonalentwicklung und im späteren Leben des Thieres ermöglichen u. a. m. In physiologischer Hinsicht wäre zu erwähnen, dass sie zur näheren Bestimmung der Funktion von Zellen und ganzen Organen, zur Ermittlung der Ablagerungsstätten von in den Organismus eingeführten oder in ihm erzeugten Stoffen; zur Bestimmung der Art des Knochenwachsthums; zur Bestimmung der verschiedenen chemischen Reaktion von Zellen und Zellbestandtheilen; zum Studium der Sekretions- und Resorptionsverhältnisse und ähnlichem mehr dienen kann und auch bereits gedient hat. Besonders ihre Verwendung in vergleichend-histologischer und -physiologischer Richtung dürfte zur Ermittlung vieler neuer und werthvoller Thatsachen führen.

(Vergl. auch Intravitale Färbung pflanzlicher Gewebe.)

Litteratur: (Es sind nicht alle in Betracht kommenden Arbeiten hier angegeben, doch ist mit Hilfe derselben eine vollständige Orientirung leicht zu erreichen.) APATHY (Zeit. wiss. Mikr. Bd. 9, 1892), ARNOLD (VIRCH. Arch., Bd. 159, 1900), derselbe (Arch. Mikr. Anat., Bd. 54, 1900), C. BENDA (Verh. Berlin. phys. Ges., Arch. Physiol. 1899), A. BETHE (Biol. Centr., Bd. 15, 1895), BOUISSON (Compt. rend., t. 18, 1844), K. BRANDT (Biol. Centr., Bd. 1, 1881), H. D. CAMPBELL (Unters. bot. Inst. Tübingen, II, 3, 1888), M. A. CERTES (Zool. Anz., Bd. 4, 1881), N. CHRZONSZCZEWSKY (VIRCH. Arch., Bd. 31, 1864), derselbe (VIRCH. Arch., Bd. 35, 1866), P. EHRLICH (Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus, Berlin 1885), derselbe (Biol. Centr., Bd. 6, 1886/87), derselbe (Farbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und Klinik des Blutes, Berlin 1891), derselbe (Allgem. med. Centr., 1894), EHRLICH und LAZARUS (Normale und pathol. Histologie des Blutes, aus: NOTHNAGEL, Spec. Pathol. u. Therapie, Bd. 8, 1898), A. FISCHEL (Ueber vitale Färbung von Echinodermeneiern u. s. w., Anat. Hefte, H. 37, 1899), derselbe (Untersuchungen über vitale Färbung, Anat. Hefte, H. 52, 1901), G. GALEOTTI (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), J. GERLACH (Mikroskop. Studien aus dem Gebiete der

menschl. Morphol., Erlangen 1858), H. Giercke (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), R. Heidenhain (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), E. Heckel (Journ. de l'anat. phys., 1875), O. Hertwig (Jena Zeit. Nat., Bd. 24, 1890), R. Höber (Pflüger's Arch., Bd. 86, 1901), A. Kowalewsky (Biol. Centr., Bd. 6, 1886), derselbe (Biol. Centr., Bd. 9, 1889), G. Loisel (Compt. rendu Soc. biol., 1897), derselbe (Journ. de l'anat. phys., Bd. 34, 1898), G. Martinotti (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), P. Mayer (Die Caprelliden des Golfes von Neapel, Fauna und Flora Neapels, Bd. 6, 1882), S. Mayer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1889), derselbe (Sitz. nat.-medic. Ver. »Lotos«, Prag 1896), L. Michaelis (Arch. mikr. Anat., Bd. 54, 1900), P. J. Mitrophanow (Biol. Centr., Bd. 9, 1887/90), E. Overton (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 34, 1900), W. Pfeffer (Unters. bot. Inst. Tübingen, II, 2, 1886), A. Pilliet (Journ. de microgr., t. 12, 1888), J. Plato (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900), S. Prowazek (Zeit. wiss. Zool., Bd. 83, 1897), derselbe (Arb. Zool. Inst. Wien, Bd. 11, 1899), A. M. Przesmycki (Biol. Centr., Bd. 17, 1897), derselbe (Sitz. Ges. Morph. Phys. München, 1899), L. Rhumbler (Ergebn. Anat. Entwicklungsgesch., Bd. 8. 1898), E. Schindler (Zeit. wiss. Zool., Bd. 30, 1878), Scholz (Centr. med. Wiss., Bd. 24, 1886), O. Schultze (Anat. Anz., II, 1887), B. Solger (Zeit. wiss. Zool., 1881), Wittich (Arch. mikr. Anat., Bd. 11, 1875). *Alfred Fischel,* Prag.

Fadenkörner siehe Mitochondria.

Farbstoffe der Chromatophoren siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Fehling'sche Lösung siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Feinblau, Syn. Anilinblau, spritlöslich.

Ferricyankalium, Kaliumeisencyanid, Kalium ferricyanatum, rothes Blutlaugensalz. $K_3\,Fe\,(CN)_6$ entsteht durch Oxydation von Ferrocyankalium mittels Chlor. Deshalb enthält auch das technische Salz gewöhnlich noch Chlorkalium. Es krystallisirt in dunkelrothen, rhombischen Prismen vom spec. Gew. 1,85. Sie sind in Wasser von 10° zu 36%, in kochendem Wasser zu 77,5% löslich, in Alkohol unlöslich. Die wässerige Lösung zersetzt sich bei längerem Stehen leicht unter Bildung von Ferrocyankalium und Blausäure. Ferricyankalium ist besonders in alkalischer Lösung ein kräftiges Oxydationsmittel und wird durch Reduktionsmittel in Ferrocyankalium reducirt. Verdünnte Salz- oder Schwefelsäure scheiden in der Kälte den leicht löslichen Ferricyanwasserstoff ab, in der Wärme aber Cyanwasserstoff. Eisenoxydsalze bringen in der Lösung nur eine braune Verfärbung hervor. Eisenoxydulsalze dagegen rufen eine Abscheidung von Turnbull's Blau: $Fe_3\,[Fe(CN)_6]_2$ hervor. Die Ferricyanide des Natriums und Ammoniums verhalten sich ganz ähnlich.

In der technischen Färberei wird das Ferricyankalium zur Erzeugung von Turnbull's Blau auf der Faser benutzt, ausserdem aber auch als Beize für manche Anilinfarben, mit denen es unlösliche Niederschläge bildet.

Die Hauptanwendung in der Mikrotechnik findet das Ferricyankalium zusammen mit Borax zum Entfärben von Hämatoxylinpräparaten nach der Weigert'schen Methode und ihren verschiedenen Modifikationen (Näheres siehe Nervenfasern, Markscheiden). Auch von seiner Eigenschaft, mit manchen Anilinfarben, besonders Thiazinen, schwer lösliche Verbindungen zu bilden, wird hie und da Gebrauch gemacht.

Ferrocyankalium, Kaliumeisencyanür, Kalium ferrocyanatum, gelbes Blutlaugensalz, $K_4\,Fe\,(CN)_6 + 3\,H_2\,O$, wurde früher durch Erhitzen von Blut und Pottasche dargestellt, heute benutzt man zu diesem Zwecke andere stickstoffhaltige Stoffe, wie Leder, Horn, Haare etc. Man verkohlt dieselben und schmitzt sie mit Pottasche und Eisen zusammen. Das Ferrocyankalium bildet gelbe, weiche Oktaëder vom spec. Gew. 1,86. Sie lösen sich in Wasser von 10° zu 28%, in Alkohol sind sie unlöslich. Die wässerige Lösung zersetzt sich leicht. Auf 100° erhitzt, verlieren die Krystalle ihr Krystallwasser und zerfallen zu einem weissen Pulver. Mineralsäuren scheiden aus den

wässerigen Lösungen Ferrocyanwasserstoffsäure ab, in der Wärme dagegen machen sie aus ihr Cyanwasserstoff frei. Durch Oxydation wird das Ferrocyankalium in Ferricyankalium übergeführt. Eisenoxydulsalze bilden mit Ferrocyankaliumlösung weisses Kaliumferroeisencyanür, Eisenoxydsalze, Berlinerblau.

In der Mikrotechnik dient das gelbe Blutlaugensalz vor allem zur Darstellung von Berlinerblau und als Reagens auf Eisen. Setzt man zu einem Salz der schweren Metalle Ferrocyankaliumlösung, so entsteht ein unlösliches Ferrocyanid des betreffenden Metalles. Diese Eigenschaft ist von ROBIN und LEBER benutzt worden, um mit Hilfe von Kupfersulfat unlösliches Ferrocyankupfer zu erzeugen in einer Injektionsmasse oder auf dem Gewebe.

Litteratur: ROBIN (Traité), LEBER (Arch. Ophthal., Bd. 14, 1868).

Fernambukholz, auch Rothholz oder Brasilholz genannt, ist das Holz der zu den Leguminosen gehörigen Gattung Caesalpinia, die sich in grosser Verbreitung im mittleren und südlichen Amerika, in Ostindien, Afrika und auf den Antillen findet. Auch andere Gattungen, wie Balsamodendron (Kaliforniaholz) und Baphia (Cambaholz), liefern ein ähnliches Holz.

Aus dem Rothholz wird schon seit Jahrhunderten ein in der Färberei viel verwendetes Extrakt, das Rothholzextrakt, bereitet. Sein wirksamer Bestandtheil ist das Brasilin (siehe dort). Heute wird das Rothholz in der technischen Färberei nur noch in sehr beschränktem Masse verwendet, da die mit ihm erzeugten Farben wenig licht- und waschecht sind. Als Beizen finden in der Rothholzfärberei Thonerde, Zinn-, Eisen-, Kupfer- und Chromsalze Anwendung, welche alle roth, braun oder blauroth gefärbte Lacke liefern.

In der Mikrotechnik ist das Rothholzextrakt an Stelle von Hämatoxylin von manchen Seiten empfohlen worden, und zwar hauptsächlich in Modifikationen der WEIGERT'schen Markscheidenfärbung. FLECHSIG benutzt dazu das käufliche Extrakt des japanischen Rothholzes, löst 1 Grm. in 10 Grm. absolutem Alkohol, verdünnt mit 900 Ccm. Wasser und setzt je 5 Grm. einer koncentrirten wässerigen Lösung von Glaubersalz und Weinsteinsäure zu. BREGLIA stellt sich das Extrakt selbst dar, indem er 7—10 Grm. des zerkleinerten Holzes 5—6 Tage lang mit 95%igem Alkohol stehen lässt und dann gut durchschüttelt und abgiesst. Der erstere Autor stellt im Schnitt den Chromlack dar und differenzirt nach PAL, der letztere den Kupferlack und differenzirt nach WEIGERT.

Litteratur: FLECHSIG (Arch. Phys., 1899), BREGLIA (Giorn. Ass. Nat. Med. Napoli, Jahrg. 1, 1889).

Fett. Die im thierischen Organismus in geformtem Zustande vorkommenden fettartigen Substanzen sind zunächst die eigentlichen Fette, die Glycerinester der Fettsäuren, von denen die verbreitetsten die Palmitin-, Stearin- und Oelsäure sind. Unter Umständen treten auch die freien Fettsäuren und die Kalksalze der Fettsäuren auf. Zu den fettartigen Substanzen gehören ferner das Myelin der markhaltigen Nervenfasern; das Pigment der Ganglienzellen, dessen Fettnatur von ROSIN[1]) nachgewiesen worden ist (»Lipochrom«). Auch sonst scheint es vorzukommen, dass gelbe Pigmente in naher Beziehung zum Fett stehen.[2])

Im allgemeinen haben die fettartigen Substanzen so hervorstechende physikalische Eigenschaften, dass man sie in frischen Präparaten ohne weitere Hilfsmittel erkennen kann. Die eigentlichen Fette haben ein sehr starkes Lichtbrechungsvermögen, infolgedessen ihre Tröpfchen dunkle Konturen haben und das auffallende Licht mehr reflektiren als andere Substanzen. Die letztere Eigenschaft lässt sich nur bei schwächeren Vergrösserungen feststellen, bei Anwendung von Objektiven, deren Abstand vom Objekt gross genug ist, um dem auffallenden Licht Zutritt zu gewähren.

Von einfachen mikrochemischen Reaktionen dient ferner zur Erkennung des Fettes die Unlöslichkeit in verdünnten Säuren und Alkalien, die Löslichkeit in Alkohol, Aether und Chloroform. Die freien Fettsäuren treten in Form von charakteristischen Nadeln auf, die häufig zu Büscheln gruppirt sind. Dass trotzdem das Bedürfniss nach besonderen mikrochemischen Fettreagentien vorliegt, hat darin seine Begründung, dass es einerseits auch andere Substanzen von hohem Lichtbrechungsvermögen giebt als Fett, die sogar die Vorliebe des Fettes, in feinen Körnchen aufzutreten, theilen: die eosinophilen Granula und die Zymogenkörnchen des Pankreas und der anderen Speicheldrüsen, und andererseits die Löslichkeitsverhältnisse nicht immer massgebend sind; z. B. gelingt es sehr schwer, die kohlenstoffreicheren Fettsäuren, wachsartige Fette etc. unter dem Mikroskop in Alkohol zu lösen.

Das Bedürfniss nach Fettreagentien beruht aber noch auf einem anderen Umstand. Da bei den gewöhnlichen Proceduren, denen man die Organe zur Herstellung von Schnitten unterwirft, fettlösende Mittel, wie Alkohol, Aether, Chloroform, Xylol, zur Anwendung gelangen, so bemühte man sich, Reagentien zu finden, welche das Fett unlöslich in den genannten Mitteln machen. Beim Myelin genügt dazu die Fixation in Chromsäure oder Chromaten. Bei den anderen Fetten gelingt es nur mit Hilfe von Osmiumtetroxyd, OsO_4 (Osmiumsäure, Ueberosmiumsäure). Dieses wird durch Fett zu metallischem Osmium reducirt, welches in äusserst feinkörniger Form und intensiv schwarzer Farbe sich an Stelle des Fettes niederschlägt. Dieses schon seit langer Zeit gebräuchliche Mittel ist aber einerseits ein nicht durchaus specifisches Reagens auf Fett, andererseits ist nicht jede Fettart imstande, Osmiumsäure direkt zu reduciren.

Wie nämlich von Altmann[4]) nachgewiesen worden ist, wird die Osmiumsäure nur vom Oleïn reducirt, nicht aber von Palmitin- und Stearinfett. Diese Angaben von Altmann haben durch Starke[3]) eine Bestätigung erfahren, er fügte jedoch die wichtige Beobachtung hinzu, dass auch bei anderen Fetten, wenn sie einmal mit Osmiumsäure durchtränkt worden sind, nachträglich die Schwärzung eintritt, sowie sie in Alkohol gebracht werden. Diese auffällige Thatsache kann man sich vielleicht derartig erklären, dass nicht eigentlich das Stearin- oder Palmitinfett die Osmiumsäure reducirt, sondern der in diese eindringende Alkohol; und in der That sind ja gerade die Fette diejenigen Gewebselemente, welche im Gegensatz zu den übrigen mehr oder weniger eiweissähnlichen Stoffen der Gewebe eine intermolekulare Diffusion des Alkohols zulassen. Man muss dabei nur die Annahme machen, dass die Osmiumsäure zunächst in unveränderter Form von dem Fett festgehalten wird; die Art und Weise, wie dies geschieht, können wir zwar nicht mit Sicherheit angeben, jedoch liegt es nahe, auch hier an einen einfachen Lösungsprocess zu denken, so dass man sich vorstellen mag, dass die Osmiumsäure aus der wässerigen Lösung durch das Fett gleichsam ausgeschüttelt wird.

Starke[3]) hat in seiner eingehenden Untersuchung ferner gefunden, dass die Wirkung der Osmiumsäure verschieden ausfällt, wenn zur nachträglichen Behandlung absoluter, beziehungsweise sehr starker, als wenn verdünnter Alkohol benutzt wird. Nur in dem letzten Fall wird ein jedes Fettkörnchen in seiner Gesammtheit geschwärzt, während bei Anwendung von sehr starkem Alkohol durch eine Kombination der fettlösenden Kraft desselben mit seiner Osmiumsäure reducirenden Eigenschaft nur eine partielle Schwärzung eintritt. Es entstehen dann die sogenannten Ringkörner Altmann's. Der Aethylalkohol ist durch Aldehyd oder Amylalkohol nicht zu ersetzen.

Es ist allerdings auch eine andere Erklärung für die Alkoholwirkung möglich. Wie wir nämlich später bei den eigentlichen Fettfärbungen sehen

werden, färben sich die Fette entweder in flüssigem Zustande oder doch wenigstens in einem bei Temperaturen, die nicht weit unter dem Schmelzpunkt liegen, vorkommenden weichen Zustande. Diese Bedingung erfüllt unter normalen Verhältnissen nur das Oleïnfett, daher färben sich die höher schmelzenden Fette und Wachse erst beim Anwärmen. Möglicherweise beruht auch die Reaktionsfähigkeit des Oleïnfettes gegen Osmiumsäure nicht auf einer specifischen Eigenschaft des Oelsäuremoleküls, sondern einfach auf der halbflüssigen Beschaffenheit des Oleïnfettes bei gewöhnlicher Temperatur, und in diesem Sinne wirkt der Alkohol bei den höher schmelzenden Fettsorten vielleicht nur als Lösungs- oder Quellungsmittel und bewirkt das Reagiren der jetzt weich gewordenen Fettsäure gegen das Osmium. Ich wage auf Grund der bisher angestellten Versuche noch nicht die beiden erwähnten Möglichkeiten zu entscheiden.

Wenn die Osmiumsäure reducirt wird, muss die Oelsäure offenbar oxydirt werden; die Produkte, welche bei diesem Processe entstehen, sind noch nicht untersucht worden. Das in feinster Form niedergeschlagene metallische Osmium lässt sich durch eine Reihe von Oxydationsmitteln nachträglich wieder in Osmiumtetroxyd verwandeln; die Eigenschaft kann man einerseits dazu benutzen, um alte Lösungen von Osmiumsäure, welche sich geschwärzt haben, zu regeneriren. Für diesen Zweck empfiehlt sich als Oxydationsmittel am meisten das Wasserstoffsuperoxyd, welches unter lebhafter Sauerstoffentwicklung die geschwärzte Osmiumsäure wieder vollkommen gebrauchsfähig macht. Andererseits kann man die Oxydirbarkeit des feinkörnigen metallischen Osmiums dazu benutzen, um absichtlich in den Schnitten das Osmium wieder zu entfernen. Man kann zu diesem Zweck ausser dem Wasserstoffsuperoxyd auch altes ozonhaltiges Terpentinöl und dergleichen benutzen. Will man, dass die Fettschwärzung durch Osmium im Dauerpräparat gut erhalten bleibt, so muss man Kanadabalsam, der in Terpentin gelöst ist, sorgfältig vermeiden und nur Xylolbalsam nehmen. Es scheint, dass die Leichtigkeit, mit der die Osmiumschwärzung durch Terpentin verschwindet, von der Natur des Fettes abhängt; es giebt wenigstens Fettarten, bei denen die Schwärzung schwerer, und solche, bei denen sie leichter zu vernichten ist; ja es kommt sogar vor, dass das Osmiumfett bei der Paraffineinbettung theilweise gelöst wird, was sich durch eine graue Färbung des Chloroforms bemerkbar macht. Unter welchen Umständen dieser unliebsame Vorgang eintritt, habe ich nicht ermitteln können.

Bristol giebt an, dass das Osmiumtetroxyd durch organische Substanzen zum Osmiumdioxyd reducirt wird.

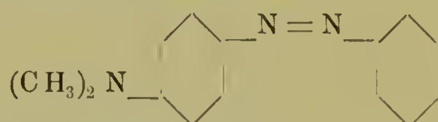
Auch Starke ist auf Grund des alten Berzelius'schen Handbuchs der Chemie der Ansicht. In neueren Lehrbüchern der Chemie wird von der Existenz des OsO_2 nichts mehr angegeben.

Der Vortheil der Osmiumsäure liegt darin, dass osmirtes Fett in Alkohol, Xylol u. s. w. nicht mehr löslich ist und daher die Einbettung in Paraffin und Celloidin gestattet, allerdings dringt die Osmiumsäure sehr schwer in das Innere der Organe ein, so dass man gut thut, nicht mehr als 1 Mm. dicke Stücke zu osmiren. Bei sehr fettreichen Organen, wie Knochenmark oder Fettgewebe, beschränkt sich aber auch dann die völlige Osmirung auf die alleroberflächlichste Schicht. Man kann übrigens auch Gefrierschnitte von Organen, welche in Formol fixirt worden sind, einzeln osmiren und hat dann eine grössere Sicherheit, dass die Osmirung vollkommen wird.

Ein zweites Princip, um Fett zu färben, beruht in der Anwendung von organischen Farbstoffen, welche nur Fett färben. Das älteste dieser Mittel ist das Alkannin, $C_{15}H_{14}O_4$, ein in der Alkannawurzel (die Wurzel von Anchusa tinctoria) enthaltener Farbstoff. Seine Strukturformel ist

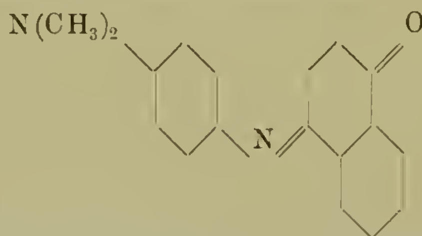
völlig unbekannt. Beim Destilliren mit Zinkstaub wird es zu Methylanthracen reducirt. Der Farbstoff ist bisher nicht krystallisirt erhalten worden. Er ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Ligroin und besonders fetten Oelen, und zwar mit schöner dunkelrosenrother Farbe. In Alkalilauge löst er sich mit blauer Farbe. Säuren scheiden aus der Lösung den rothen Farbstoff wieder ab. Das Alkannin ist daher ein schwach saurer Farbstoff. In der Technik kommt es meist in Form eines Alkannawurzelextrakts zur Verwendung und dient zum Färben von fetten Oelen, Pomaden u. s. w.

Mit dem Aufschwung der Anilinfarbenfabrikation lernte man eine andere Reihe von Farbstoffen kennen, welche Fett zu färben imstande sind, und zwar zunächst das Dimethylamidoazabenzol

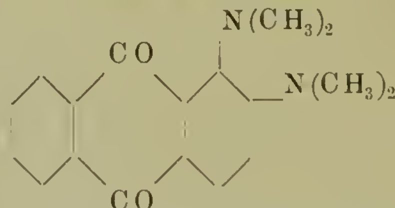


also einen basischen Farbstoff. Die freie Base ist gelb gefärbt, in Wasser unlölich, dagegen löslich in Alkohol, Fetten, Chloroform u. s. w. Mit Säuren bildet es Salze, welche ziemlich schwer in Wasser mit rosenrother Farbe löslich sind. Der Basencharakter des Farbstoffes ist sehr schwach. Im Gegensatz zu allen in der Histologie als Kernfarbstoffe gebräuchlichen basischen Farbstoffen besitzt er nur eine basische, nämlich eine Dimethylamidogruppe, während die sonst üblichen basischen Farbstoffe meist 3 basische Gruppen enthalten (z. B. Methylenblau, Fuchsin). Noch schwächer ausgeprägt ist der basische Charakter in dem um 2 Methylgruppen ärmeren Amidoazobenzol, welches überhaupt nur mit koncentrirteren Säuren Salze bildet, welche schon durch die blosse Verdünnung mit Wasser dissociirt werden. Die Löslichkeitsverhältnisse des Amidoazobenzol sind dieselben wie die des Dimethylamidobenzol.

Andere basische Farbstoffe, welche sich durch sehr geringe Basicität auszeichnen und daher als freie Base in alkoholischer Lösung Fett färben, sind z. B. Indophenol von der Konstitution



welches das Fett blau färbt. Seine Salze sind röthlichgelb, sehr unbeständig und färben das Fett nicht. Ferner das Tetramethyldiamidoanthrachinon.



dessen beide Amidogruppen durch die gleichzeitige Gegenwart der beiden CO-Gruppen in ihrer Basicität stark geschwächt werden. (Beide Farbstoffe nach Herxheimer.)

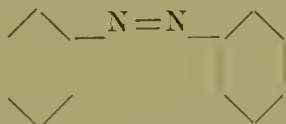
Ferner giebt es auch schwach saure Farbstoffe, welche in Form der freien Farbsäuren aus alkoholischer Lösung Fett färben.

Wir haben es also hier mit einer kleinen Gruppe von Farbstoffen zu thun, welche sehr wenig ausgesprochene basische Eigenschaften besitzen. Sie

bilden den Uebergang zu denjenigen Farbstoffen, welche völlig indifferent sind, weder sauren, noch basischen Charakter zeigen.

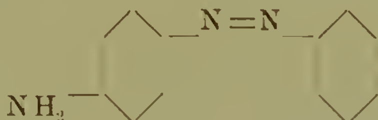
Der Begriff der indifferenten Farbstoffe, welchen ich in diesem Sinne in meiner Untersuchung über die Fettfarbstoffe eingeführt habe, ist nach dem Gesagten leicht verständlich. Denselben Namen wendet PAPPENHEIM für diejenigen Farbstoffe an, welche sowohl saure wie basische Eigenschaften besitzen. Ich möchte aber diese Farbstoffe lieber als amphotere bezeichnen und den Namen der indifferenten Farbstoffe auf diejenigen beschränken, welche überhaupt keine salzbildenden Gruppen besitzen. Zum besseren Verständniss dieses Begriffes sei ein kleiner Exkurs in die Farbstoffchemie gestattet.

Die organischen Farbstoffe lassen sich auf eine Reihe von Muttersubstanzen zurückführen, welche zwar eine Eigenfarbe besitzen, aber nicht die Fähigkeit haben, andere Substanzen zu färben. Diese nennt man Chromogene, so z. B. ist das Chromogen der Azofarbstoffe das Azobenzol.

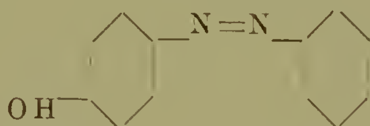


Dieses ist ein völlig indifferenter Körper, welcher weder mit Säuren noch mit Basen Salze zu bilden imstande ist, nur gegen koncentrirte Schwefelsäure zeigen die Stickstoffatome des Azobenzol basische Eigenschaften.

Aus dem Azobenzol wird nun durch das Hinzutreten einer Amidogruppe ein basischer Farbstoff:

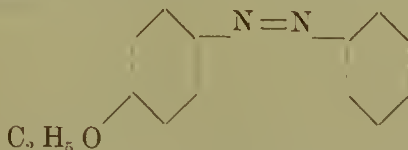


Amidoazobenzol, durch das Hinzutreten z. B. einer Hydroxylgruppe ein saurer Farbstoff:



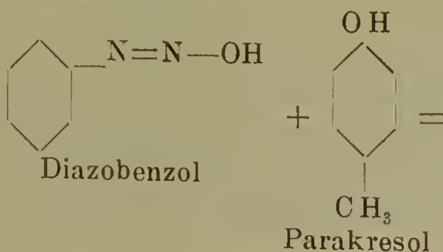
Oxyazobenzol.

Ein indifferenter Farbstoff ist nun entweder das Azobenzol an sich oder nach Hinzutreten einer indifferenten, weder sauren noch basischen Gruppe, Oxymethyl, OCH_3, Oxäthyl, OC_2H_5 u. s. w. Ein einfacher indifferenter Farbstoff wäre demnach z. B.

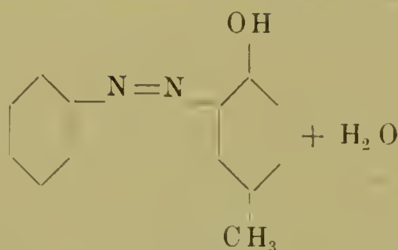


Aethoxyazobenzol.

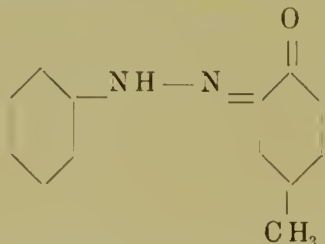
Indifferente Farbstoffe können aber noch auf andere Weise entstehen. Es haben nämlich diejenigen Oxyazofarbstoffe, welche die Hydroxylgruppe in Orthostellung zur Azogruppe enthalten, die Eigenschaft, im Augenblick ihres Entstehens die Umlagerung eines Wasserstoffatoms in ihrem Molekül durchzumachen, so z. B. entsteht aus



der Regel nach in alkalischer Lösung der Farbstoff



Benzolazoparakresol. Dieses lagert sich aber sofort um zu



Wie man sieht, ist das eine H-Atom, welches vorher an den Sauerstoff gebunden war, an das eine N-Atom gewandert und die saure OH-Gruppe ist in das indifferente =O verwandelt worden. Der Beweis dafür, dass der Farbstoff wirklich keine OH-Gruppe enthält, wird dadurch erbracht, dass er mit Alkalilauge keine in Wasser lösliche Verbindung eingeht, was jeder mit einer OH-Gruppe versehene Körper der aromatischen Reihe (ein Phenol) thut. Diese Konstitution besitzt der Körper aber nur, solange er in wässeriger Lösung suspendirt ist; in alkoholischer Lösung bildet der Körper mit Leichtigkeit Alkalisalze und zeigt daher, dass er die erste Konstitution besitzt. Solche Körper, die je nach den Bedingungen durch eine intramolekulare Atomwanderung in einander übergehen können, bezeichnet man als tautomer.

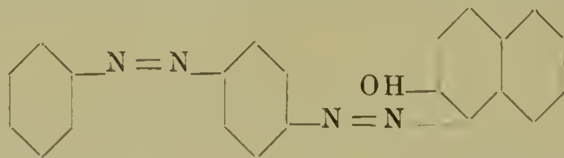
Die indifferenten Farbstoffe können also von dreierlei Natur sein.

I. Die Chromogene selbst, soweit sie als solche in freiem Zustande als gefärbte Körper existenzfähig sind, z. B. das Azobenzol.

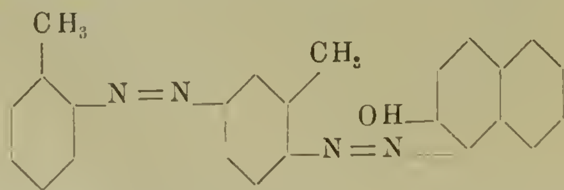
II. Die Chromogene nach Hinzutreten einer indifferenten Atomgruppe.

III. Die Orthooxyazokörper vermöge ihrer Tautomerie.

Von den indifferenten Farbstoffen wird man sich für die Histologie nun die farbkräftigsten aussuchen. Von Daddi ist das Sudan III (Berlin)



Benzol-Azobenzolazo-β-Naphtol in die Technik eingeführt worden. Nachdem ich das Princip des Fettfarbstoffcharakters in diesem Molekül erkannt hatte, fand ich in einem höheren Homologen dieses Farbstoffes



Toluolazotoluolazo-β-naphtol, Scharlach R oder Fettponceau (Kalle) einen noch farbenkräftigeren Repräsentanten der Gruppe. Es bildet ein dunkelrothes Pulver, welches in Wasser, Säuren und Alkalien, Glycerin absolut unlöslich ist, in Eisessig, höheren Fettsäuren, fetten Oelen, flüssigem oder geschmolzenem Paraffin, Chloroform löslich ist, in Xylol etwas schlechter; in Alkohol

löst es sich mit rother Farbe, in koncentrirter Schwefelsäure mit blauer Farbe, wobei offenbar eine Salzbildung zwischen den Azogruppen und der Schwefelsäure stattfindet, welche aber schon beim blossen Verdünnen mit Wasser wieder aufgehoben wird. Diese Löslichkeitsverhältnisse sind bei allen indifferenten Farbstoffen die gleichen. Für die Histologie am wichtigsten ist, dass sie sich in allen Fetten, auch in Myelin und sogar in dem Lipochrom der Ganglienzellen in gleicher Weise lösen. Manchmal kann man auch die Eigenschaft, dass sie sich in Paraffin lösen, zum Färben des Paraffins mit Nutzen anwenden. Die Färbung des Fettes auch in Schnitten beruht allein auf einem Lösungsprocess. nicht auf einer salzartigen Bindung zwischen dem Fett und dem Farbstoff. Der Farbstoff wird aus dem schlechteren Lösungsmittel, dem Alkohol, durch das bessere Lösungsmittel, das Fett, einfach ausgeschüttelt. Die Fettfärbungen sind daher ein treffendes Beispiel für diejenigen Färbungen, welche ohne chemische Processe zustande kommen, die man daher als rein physikalisch bezeichnen kann.

Die praktische Anwendung der Fettfärbemethoden. Obgleich die Osmiumsäure an sich ein vorzügliches Fixirungsmittel auch für die übrigen Gewebe ist, so kombinirt man sie wegen ihrer äusserst geringen Diffusionsfähigkeit am besten mit anderen Fixirungsmitteln: mit Chromsäure (nach Flemming) oder Platinchlorid (nach Hermann). Die Recepte für die Fixirung sind in dem betreffenden Kapitel nachzusehen. Für die Osmirung von Gefriermikrotomschnitten empfiehlt sich eine vorhergehende Fixation des Stückes in 10⁰/₀igem Formol je nach der Grösse des Stückes 3 Stunden oder beliebig länger und Einlegen der Schnitte nach gründlicher Auswaschung in Wasser in eine 1—2⁰/₀ige Lösung von Osmiumsäure oder in zusammengesetzte Flemming-sche Lösung für eine Stunde, dann wiederum Abspülen in Wasser. Nachfärbungen der Kerne sind nicht leicht, weil die Osmiumsäure das Färbevermögen stark herabdrückt, geeignet ist das Safranin nach Flemming. Die Schnitte können entwässert und in Kanadabalsam eingeschlossen werden.

Trockenpräparate kann man auch in der Weise osmiren, dass man sie unter einer Glasglocke bei gewöhnlicher Temperatur den Dämpfen einer wässerigen Lösung von Osmiumsäure für mehrere Stunden aussetzt.

Die Anwendung der organischen Fettfarbstoffe gestaltet sich folgendermassen.

Das erste Princip ist Vermeidung aller fettlösenden Substanzen: absoluter Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Schwächerer Alkohol schadet nicht, jedoch ist es rathsam, niemals stärkeren Alkohol als 70⁰/₀igen mit den Schnitten in Berührung zu bringen, besonders die Oelsäure löst sich leicht in höher koncentrirtem Alkohol.

Trockenpräparate werden am einfachsten dadurch fixirt, dass man sie den Dämpfen von Formaldehyd aussetzt. Man füllt z. B. den Schwefelsäurenapf eines Exsiccators mit ein wenig Formol und legt die beschickten Objektträger oder Deckgläschen vermittelst einer Unterlage auf den Napf, die bestrichene Seite nach oben. Nach 5—10 Minuten ist die Fixation mit Sicherheit beendet. Dann legt man die Präparate auf eine Viertelstunde in eine gesättigte, filtrirte Lösung von Scharlach in 70⁰/₀igem Alkohol. Diese Lösung ist viele Wochen haltbar.

Das Farbschälchen muss zugedeckt werden, weil beim Verdunsten des Alkohols der Farbstoff in büschelförmig angeordneten Nadeln ausfallen und das Präparat beschmutzen kann. Dann spült man das Präparat ganz kurz mit 70⁰/₀igem Alkohol ab und bringt es in Wasser. Das direkte Uebertragen aus der Farblösung in Wasser kann wiederum zu Niederschlägen Anlass geben, ist aber trotzdem rathsam, wenn man jede geringste Spur Fett erkennen will. Die Niederschläge sind an ihrer Büschelform leicht zu erkennen und nicht zu verwechseln. Zur Nachfärbung der Kerne eignet sich z. B.

BÖHMER'sches Hämatoxylin oder Methylenblau. Der Einschluss der Präparate erfolgt entweder in Glycerin oder in Lävulosesyrup. Diesen stellt man sich her, indem man Lävulose mit einer sehr geringen Menge Wasser anrührt und einen Tag im Brutschrank stehen lässt. Die Lävulose hat den grossen Vorzug vor dem Glycerin, dass sie schneller eindringt und stärker aufhellt, die Hämatoxylinfärbung wird aber durch Lävulose allmählich zerstört. Es ist deshalb rathsamer, mit Methylenblau oder Toluidinblau nachzufärben. Um von Schnitten eine Fettfärbung zu erhalten, verfährt man folgendermassen: Die Organstücke werden in 10%iger Formollösung 24 Stunden fixirt, mit Wasser eine oder mehrere Stunden ausgewaschen, mit dem Gefriermikrotom geschnitten, die Schnitte in Wasser gebracht, in 70%igem Alkohol kurz abgespült und in die oben angegebene Scharlachlösung $^1/_4$ Stunde eingelegt, dann wiederum mit 70%igem Alkohol kurz abgespült, mit Hämatoxylin, bezw. mit einer dünnen wässerigen Methylenblaulösung nachgefärbt, mit Wasser abgespült und in Lävulose, bezw. Glycerin eingelegt. Bei Schnitten zeigt sich die Ueberlegenheit der Lävulose über das Glycerin besonders.

Von HERXHEIMER ist eine Methode angegeben worden, um die Färbung mit Scharlach bedeutend abzukürzen. Wie schon oben angegeben wurde, bildet das Scharlach R in alkoholischer Natronlauge mit Leichtigkeit ein Natriumsalz, welches in Alkohol viel leichter löslich ist als der freie Farbstoff. Infolgedessen kann man in alkoholischer Natronlauge eine viel concentrirtere Scharlachlösung herstellen, als in gewöhnlichem Alkohol. Bringt man fetthaltige Präparate in eine solche Lösung, so diffundirt das freie Scharlach in die Fetttröpfchen hinein und lässt das Natron im Alkohol zurück, in derselben Weise, wie man aus salzsaurem Dimethylamidoazobenzol in wässeriger Lösung durch Fett die freie Base extrahiren kann. Da die HERXHEIMER'sche Lösung viel koncentrirter ist als die gewöhnliche alkoholische, so erreicht die Fettfärbung viel früher als bei dieser ihr Maximum, schon nach ein bis zwei Minuten. Die Natronlauge, welche in wässeriger Lösung auf alle Gewebe schädigend einwirkt, schadet in alkoholischer Lösung dem Gewebe fast garnicht. Jedoch kann ich nicht so weit gehen wie HERXHEIMER, dieser Lösung überhaupt jede schädigende Wirkung abzusprechen. Bei Trockenpräparaten kommt es doch leicht vor, dass die Zellen bei dieser Lösung fortschwimmen und auch bei Schnitten quillt mitunter das Protoplasma. Das Recept für die Lösung ist: Alkohol absolutus 70, 10%ige Natronlauge 20, Wasser 10, Scharlach R zur Sättigung.

Sollte daran gelegen sein, das Fett blau zu färben, so benutzt man dazu eine gesättigte Lösung von Indophenol in 70%igem Alkohol. Die Gegenfärbung kann z. B. mit Alaunkarmin stattfinden.

Anilinfarbstoffe wurden zur Fettfärbung zuerst von RANVIER und DADDI angewandt. RANVIER[5]) benutzte »Chinolinblau« (Cyanin). Ich weiss nicht, welchen Farbstoff RANVIER in Händen gehabt hat. Wirkliches Chinolinblau löst sich nicht in Fett. DADDI[6]) benutzte den Farbstoff Sudan III zuerst. Er stellte auch fest, dass bei Thieren sich das Fettgewebe auch nach Verfütterung dieses Farbstoffes roth färbt. Eine Beschreibung der Sudanfärbung geben ARNOLD[9]), ROSENTHAL[107]) und M. COHN.[118]) Die ersten theoretischen Untersuchungen über die Fettfärbung wurden von mir angestellt, indem ich einige in der Industrie den Farbchemikern seit längerer Zeit bekannte Grundsätze benutzte.[7]) Ich kam zuerst zu dem Resultat, dass allein die indifferenten Farbstoffe die Eigenschaft haben, Fett zu färben. Später jedoch zeigten HERXHEIMER[8]) und ich[7]), dass es auch saure und basische Fettfarbstoffe giebt. Ich konnte aber nachweisen, dass diese nicht einfach den sonst gebräuchlichen basischen und sauren Farbstoffen gleichzusetzen sind, sondern sich in chemischer Beziehung den indifferenten Farbstoffen eng anreihen.

In neuester Zeit ist von Benda eine Methode angegeben worden, um die Nadeln der freien Fettsäure und des fettsauren Kalks, welche sich vor allem bei der Fettgewebsnekrose finden, isolirt zu färben. Benda fand nämlich, dass diese Krystalle sich in einer Lösung von Kupferacetat blau färben. Er führt diese Reaktion darauf zurück, dass sich ein Salz der Fettsäure mit dem Kupfer bildet, welches die ausgesprochene Blaufärbung zeigt. Den Chemikern war die Leichtigkeit, mit der sich das fettsaure Kupfer bei blosser Berührung von Fettsäure mit einem Kupfersalz bildet, wie es scheint, noch nicht bekannt. Das Eigenartigste ist, dass sich dieses Salz auf der Basis der alten Fettsäurenadeln bildet, ohne dass eine Umkrystallisation stattfindet. Man pflegt solche Processe als Pseudomorphismus zu bezeichnen. Das fettsaure Kupfer hat hier zwangsweise eine Krystallform angenommen, welche eigentlich nicht ihm, sondern der freien Fettsäure, bezw. dem fettsauren Kalk zukommt. Auch hierbei stellte sich durch die erschöpfende Untersuchung von Benda heraus, dass im wesentlichen die Oelsäure an dieser Reaktion betheiligt ist. Mit Oelsäuro gelang die Reaktion in der Kälte sofort, dagegen mit Palmitin- und Stearinfetten erst bei längerer Einwirkung bei 40° oder bei Siedetemperatur. Ich möchte auch hier die Vermuthung aussprechen, dass die rasche Reaktion gerade der Oelsäure gegenüber dem Kupfer nicht eine specifisch chemische Reaktion der Oelsäure ist, sondern dass sie nur auf dem halb flüssigen Zustande derselben beruht; da nun im Körper stets Gemische verschiedener Fettsäuren vorkommen, so wird man annehmen dürfen, dass eine prompte Reaktion gegen Kupfer nicht an das Vorhandensein reiner Oelsäure geknüpft ist, sondern dass auch die höheren Fettsäuren, wenn sie durch die Vermischung mit der Oelsäure in einen weicheren Aggregatzustand gelangt sind, sich ebenfalls an der Reaktion betheiligen. Die intensivsten Färbungen, die bei durchfallendem Licht meergrün, bei auffallendem bläulich erscheinen, kommen den nadelförmigen Fettsäurekrystallen zu. In Glycerin ist die Färbung haltbar; vor der Einbettung in dasselbe kann man eine Gegenfärbung des Gewebes mit Alaunhämatoxylin vornehmen oder auch mit einfacher Weigert'scher Hämatoxylinlösung, welche die Gewebe infolge ihrer vorherigen Durchtränkung mit Kupfer mit dem von der Markscheidenfärbung her bekannten blauschwarzen Ton färbt. Es ist noch interessant, dass die Blaufärbung der Fettnadeln durch das Hämatoxylin nicht alterirt wird.

Litteratur: [1]) Rosin (Deutsch. med. Woch., 1896), [2]) Plato (Arch. mikr. Anat., Bd. 50, 1897), [3]) Starke (Arch. Phys., 1895), [4]) Altmann (Die Elementarorganismen, Leipzig, 1894), [5]) Ranvier (Traité etc.), [6]) Daddi (Arch. it. Biol., Bd. 26, 1896), [7]) Michaelis (Deutsch. med. Woch., 1901 und Virch. Arch., Bd. 164, 1901), [8]) Herxheimer (Deutsch. med. Woch., 1901), [9]) Arnold (Virch. Arch., Bd. 163, 1901), [10]) Rosenthal (II. Bericht der patholog. Gesellschaft, 1900), [11]) Cohn (Zeit. klin. Med., Bd. 38, 1899).

L. Michaelis, Berlin.

Fettablagerung (Fettinfiltration und Fettdegeneration). Das Auftreten von Fett in den verschiedenartigsten Gewebszellen gehört zu den häufigsten krankhaften Erscheinungen. In der überwiegenden Anzahl aller Fälle ist das Fett von aussen (aus dem Blute und den Säften) in den Zellleib niedergeschlagen worden, und das Krankhafte besteht darin, dass es dort festgehalten und nicht weiter verarbeitet wird. Ob überhaupt eine Umwandlung von Zellprotoplasma in Fett vorkommt (Fettmetamorphose Virchow's), ist zweifelhaft und wird neuerdings immer mehr bestritten (Pflüger, Rosenfeld, Beneke, Lubarsch). Trotzdem kann eine Unterscheidung zwischen Fettinfiltration und Fettdegeneration noch aufrecht erhalten werden in dem Sinne, dass bei der reinen Infiltration der krankhafte Zustand der Zelle allein in der übermässigen Anhäufung von Fetttropfen sich äussert ohne sonstige morphologische oder irreparable biologische Veränderung der Zelle, während bei der Fettdegeneration sich zu der Ablagerung von Fett noch eino weitere

(morphologisch nachweisbare) Degeneration der Zelle hinzugesellt, die sowohl Folge der übermässigen Fettablagerung bezw. der ihr zugrunde liegenden Erkrankung sein, als auch ihr vorausgehen kann. Das Fett tritt bald in grossen, bald in kleinen Tropfen auf; bald liegt in der einzelnen Zelle nur ein, bald mehrere Tropfen. Die Grösse der Tropfen und ihre Anzahl ist für die Frage, ob Fettinfiltration oder Degeneration vorliegt, bedeutungslos, wenn auch bei der Fettinfiltration der Leber z. B. meist nur grosse Fetttropfen in den Leberzellen sich finden. In den Nieren dagegen, im Hoden, in Gefässepithelien (z. B. bei Resorption von Fett nach Fettembolie) treten auch bei rein infiltrativen Zuständen zahlreiche kleine Fetttropfen auf. Der Nachweis des Fettes an frischen Präparaten bedarf hier keiner näheren Besprechung. Dagegen ist die Sichtbarmachung des Fettes für Dauerpräparate von Wichtigkeit. Wir haben dazu 2 Methoden: 1. die Osmirung des Fettes, 2. die Fettfärbung.

1. Die Osmirung des Fettes.

Am besten sind die Ergebnisse, wenn man sehr kleine und dünne Gewebsstücke in Chromosmiumgemischen (Flemming'scher Lösung, Altmann-schem Gemisch) 3—4 Tage härtet, dann gründlich in fliessendem Wasser auswäscht und Gefriermikrotomschnitte anfertigt. (Im Nothfalle genügt auch eine Härtung in Müller'scher Flüssigkeit 3—4 Tage, Nachhärtung in 1%iger Osmiumlösung 1—2 Tage.) Die Schnitte werden dann nochmals in 1%ige Osmiumlösung gebracht, wo sie 24 Stunden im Dunkeln (oder 4 Stunden im Brutschrank) verbleiben. Nach Schmorl tritt die sekundäre Schwärzung des Fettes noch besser ein, wenn man die gründlich ausgewässerten Schnitte mit absolutem Alkohol behandelt. Darnach entweder Untersuchung in Glycerin oder Kali aceticum oder nach vorausgegangener Kernfärbung mit $^1/_2$—1%iger Safraninlösung Entwässern in Alkohol absolut., schnelles Aufhellen in Benzin, Einschluss in Kanadabalsam.

Hat man nicht in Osmiumgemischen gehärtet, sondern in Formol, so müssen die Formolgefrierschnitte erst noch auf 24 Stunden in 1%ige Osmiumsäure oder Flemming'sche Lösung gebracht werden. Weiteres Verfahren im wesentlichen wie oben.

Die osmirten Stücke in Paraffin oder Celloidin einzubetten, empfiehlt sich nicht, da durch die zur Vorbereitung für die Einbettung nöthigen Reagentien ein Theil des osmirten Fettes noch gelöst werden kann. Im allgemeinen sind die Präparate nicht dauerhaft, wenn man sie nicht in dickem Balsam ohne Deckglas aufbewahrt. Ein Mangel der Methode besteht auch darin, dass in Osmiumsäure auch fettfreie, z. B. gerbstoffhaltige Massen geschwärzt werden.

2. Färbung mit Sudan III oder Scharlach.

Die Stücke werden in Formol, Formol-Müller oder Müller'scher Lösung gehärtet und dann nach Auswässern Schnitte mit dem Gefriermikrotom angefertigt. Auch Gefrierschnitte von nicht gehärtetem Material sind brauchbar, geben aber für gewöhnlich nicht so gute Resultate. Die Schnitte werden aus dem Wasser zunächst 5 Minuten in 50%igen Alkohol und darauf in die Farbstofflösungen gebracht. Diese dürfen nur in 70—85%igem Alkohol gelöst sein; man benutzt gesättigte Lösungen, worin die Schnitte 10 Minuten bis $^1/_2$ Stunde bleiben. Darauf Abspülen mit 50%igem Alkohol, gutes Auswaschen in destillirtem Wasser. Nachfärben mit Hämatoxylin, längeres Liegenlassen in destillirtem Wasser, wo sie gut nachbläuen. Aufbewahrung in Glycerinleim. Der Färbung mit Scharlach R (Fettponceau) wird von Herxheimer nachgerühmt, dass sie intensiver das Fett färbt und eine bessere Nachfärbung gestattet, wenn man alkalisch-alkoholische Lösungen benutzt. Er benutzt folgende Lösung:

Alkohol. absol. 70,0, Aq. dest. 10,0, 10%ige Natronlauge 20,0, Fettponceau bis zur Sättigung.

Darin färbt man 2—3 Minuten und verfährt im übrigen in der oben angegebenen Weise. Man erhält übrigens gleich gute Resultate mit Sudan, wenn man auch hier etwas Natronlauge zusetzt. Das Fett erscheint intensiv roth gefärbt, Myelin leicht rosaroth; Kerne blau, Fettsäurekrystalle bleiben ungefärbt. Auch die Lipochrome färben sich, z. B. das braune Pigment in den Ganglienzellen, den Nebenhoden- und Samenbläschenepithelien, auch den Zwischenzellen des Hodens. Für das Studium der Fettablagerungen bieten diese Methoden das beste, wenn auch nicht alle Fette gefärbt werden. Man kann auch andere Färbungen und Reaktionen, wie z. B. Amyloidfärbung und Eisenreaktion, mit den Fettfärbungen verbinden.

Zur Darstellung der Fettgewebsnekrosen im Pankreas und umgebenden Fettgewebe empfiehlt sich die von Benda angegebene Härtung in der Weigert'schen Kupferchromalaunessigsäurebeize mit 10% Formol (2—4 Tage im Brutschrank. Anfertigung von Gefriermikrotomschnitten und Färbung mit Sudan und Hämatoxylin). Nekrotische Theile grün, normales Fett roth, Kerne blau.

Litteratur: Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 26, 1898), Sota (Beitr. path. Anat., Bd. 27, 1899), Schmorl (Patholog. Untersuchungsmethoden, II. Aufl.), Daddi (Arch. ital. biol., Bd. 26, 1898), Rieder (Arch. klin. Med., Bd. 59, 1899). W. Rosenthal (Verh. dtsch. pathol. Ges., Bd. II, 1899), Herxheimer (Dtsch. med. Woch., 1901), Michaelis (Virch. Arch., Bd. 164, 1901), Benda (Virch. Arch., Bd. 161, 1900).

Lubarsch, Posen.

Fette Oele und **Fette,** pflanzliche, siehe Oele, pflanzliche.

Fettfarbstoffe, pflanzliche, oder Lipochrome werden die in Bakterien, Pilzen, auch wohl Blättern auftretenden gelben und rothen Farbstoffe genannt, die die Eigenschaft besitzen, sich mit koncentrirter Schwefelsäure tiefblau zu färben, wobei meist kleine, blaue »Lipocyankrystalle« entstehen. Jodjodkaliumlösung färbt die Stoffe grün.

Litteratur: Zopf (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1888). *Magnus*, Berlin.

Fettponceau, Azofarbstoff. Amidoazotoluol azo-β-Naphtol (Höchst). Dunkelrothbraunes Pulver, das in Wasser unlöslich, in Alkohol schwer löslich ist. In Schwefelsäure mit blaugrüner Farbe löslich. Zur Fettfärbung verwendet (siehe dort).

Fettresorption siehe Darm.

Feuchte Kammer siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Fibrillen siehe Kollagenes Gewebe, Muskelfasern, Nervenzellen.

Fibrillen in Pflanzenzellen. Als reizleitende Strukturen, auf deren Aehnlichkeit mit Nervenfasern hingewiesen wurde, sind in den Wurzeln kurz hinter der Spitze, zumal im Plerom bei zahlreichen Pflanzen fibrillenartige Bilder beschrieben worden. Feine Fibrillen laufen einzeln oder in Strängen in der Längsrichtung von Zellwand zu Zellwand. Sie sind sehr leicht zerstörbar, so dass sie schon vor dem Absterben der Zelle, allein auf den Wundreiz hin, aufgelöst werden. Bei der Lebendbeobachtung gelingt es hauptsächlich, sie durch Vitalfärbung mit 1%iger Methylenblaulösung für wenige Augenblicke scharf hervortreten zu lassen, man sieht dann auch, dass sie oft in verschiedenen Zellen untereinander korrespondiren.

Beim Studium konservirten Materials ist darauf zu achten, dass durch Abschneiden der Wurzel ziemlich weit von der Spitze Wundreiz möglichst vermieden wird. Zur Fixirung hat sich Pikrinschwefelsäure folgender Zusammensetzung am besten bewährt: 100 Vol. kalt

gesättigter wässeriger Pikrinsäure; $^1/_2$% Eisessig, $^1/_2$% Schwefelsäure und »Flemming«, als Durchfärbung Parakarmin und Hämalaun; als Schnittfärbung: Smaragdgrün, Fuchsin S nach vorhergegangener Tanninbeize, Flemming 3 Farben, Heidenhain, letztere beide zum Studium der Einzelheiten. In jedem Falle färben sich die Fibrillen intensiver, wie das umgebende Plasma, besonders bei Heidenhain. Bei Pikrineisessigschwefelsäure kann häufig eine deutliche Scheide um die einzelnen Fibrillen wahrgenommen werden. Material: Allium Cepa und, besonders grosse Verhältnisse in den grossen Mittelzellen des Farnes Aspidium decussatum, wo auch noch feine Ausläufer des Hauptbündels hervortreten. — Alle diese Angaben werden von anderer Seite zurückgeführt auf Plasmaströmungen und Vakuolenwände, wohl grösstentheils mit Unrecht.

Litteratur: Nemec (Reizleitung und reizleitende Strukturen bei den Pflanzen, Jena 1901), Haberlandt (Ber. d. deutsch. bot. Ges., Bd. 20, 1901). *Magnus*, Berlin.

Fibrinfärbung. Bis zum Jahre 1886 war das Problem einer elektiven Fibrinfärbung noch nicht aufgeworfen, viel weniger war es gelöst. In diesem Jahre erlaubte ich mir auf der Naturforscherversammlung in Berlin die ersten auf Fibrin gefärbten Präparate vorzulegen und über die Methode zu sprechen. Die ausführliche Veröffentlichung erfolgte in den »Fortschritten der Medicin«, 1887, Nr. 8. Das von mir bei dieser Gelegenheit in die Technik neu eingeführte Princip bestand in der Benutzung des (mit Xylol verdünnten) Anilinöls zur Entfärbung mit Methylviolett gefärbter und darnach mit Jodjodkalium behandelter Schnitte. Bis dahin war das Anilinöl noch nie zur Differenzirung, sondern im Gegentheil nach dem Vorgange von Ehrlich als die Färbung verstärkender Zusatz verwendet worden.

Alkohol, der sonst als Differenzirungsflüssigkeit auf (in der oben angeführten Weise) gefärbte Schnitte benutzt wurde, durfte bei der betreffenden Methode nicht verwendet werden, da er das Fibrin wieder entfärbte. Man konnte ihn aber auch vollkommen entbehren, weil das Anilinöl, das ja cirka 5% Wasser zu lösen vermag, auch gleichzeitig als Entwässerungsmittel fungirte, so dass die Schnitte (nach gründlicher Abspülung mit reinem Xylol) direkt in Balsam eingeschlossen werden konnten. Freilich brachte die Nothwendigkeit, bei dieser Methode den Alkohol ganz zu vermeiden, zunächst recht beträchtliche Schwierigkeiten in der Ausführung mit sich. Wenn man nämlich versucht, mit einer wasserhaltigen Flüssigkeit durchtränkte Schnitte in Anilinöl zu bringen, so bemerkt man, dass die Schnitte ungemein schrumpfen und zu einem nicht mehr entwirrbaren Klümpchen sich zusammenballen. Um dies vermeiden zu lernen, dazu habe ich viel Zeit verbraucht. Ich versuchte alle möglichen Kunstgriffe, bis sich denn schliesslich herausstellte, dass man in ungemein einfacher Weise die Schrumpfung der Schnitte verhindern könnte. Man braucht nämlich das Auswaschen mit Anilinxylol nur (statt in einer Schale) auf dem Objektträger in der Weise vorzunehmen, wie es W. H. Welch zu ganz anderen Zwecken schon im Jahre 1876 gezeigt hatte. Man tupft also die auf dem Glase gut ausgebreiteten Schnitte durch aufgedrückte mehrfache Lagen von Fliesspapier gründlich ab. Sie werden dabei zwar nicht vollkommen trocken, aber sie bleiben eben nur feucht, nicht mehr nass. Solche abgetupfte Schnitte lassen sich nun mit Leichtigkeit, ohne irgend welche Schrumpfungen zu erleiden, mit Anilinölxylol differenziren und entwässern. Sie bleiben glatt am (gut gereinigten) Objektträger haften. Höchstens lösen sie sich (von nicht ganz sauberen Objektträgern) erst später etwas ab, dann sind aber die wässerigen Bestandtheile so weit entfernt, dass eine Schädigung der Schnitte nicht mehr zu befürchten ist.

Die dieser Differenzirung und Entwässerung durch Anilinölxylol vorangehenden Proceduren knüpften an bereits bekannte Methoden an. Ich empfahl zur eigentlichen Färbung ein mit Methylviolett (Gentianaviolett, Krystallviolett etc.) gesättigtes Anilinwasser, zur weiteren Behandlung das

aus der GRAM'schen Färbung her bekannte Jodjodkalium. Will man Doppelfärbungen erhalten, so verwendet man, wie ich in der Mittheilung angab, irgend ein Karmin, mit dem man die Kerne vorher tingirt. Das Karmin wird durch Jod ebensowenig wie durch Anilinöl alterirt.

Statt des einfachen mit Methylviolett gesättigten Anilinwassers habe ich dann auch die von mir (als Modifikation des ursprünglich von EHRLICH erfundenen Verfahrens) angegebene Mischung benutzt (gesättigte wässerige Methylviolettlösung 88 Theile, Alkohol 12 Theile, Anilinöl 2 Theile).

Einige andere kleine Modifikationen kamen dann noch hinzu, als ich bei meinen langjährigen Bemühungen, eine brauchbare elektive Neurogliafärbung zu finden, mich auch immer wieder mit der Fibrinfärbungsmethode beschäftigen musste. Es war mir zunächst nur möglich gewesen, in Alkohol gehärtete Stücke zur Fibrinfärbung zu benutzen. Bei meinen Neurogliastudien fand ich aber ein Mittel, auch Präparate aus MÜLLER'scher Flüssigkeit oder dergleichen auf Fibrin in der angegebenen Weise zu tingiren. Ich habe dieses Mittel in meinem Buche »Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia« (1895) veröffentlicbt, es scheint aber nicht sehr bekannt geworden zu sein. Man braucht nämlich die Schnitte aus gechromten Präparaten nur zu reduciren, um eine brauchbare Fibrinfärbung an ihnen vornehmen zu können (pag. 139, a. a. O.). Das erreicht man schon durch mehrstündiges Einlegen in 3–5%ige wässerige Oxalsäurelösung. Noch besser ist es übrigens, wenn man für solche und für andere schwer färbbare Präparate nach den Principien der Neurogliafärbung überhaupt verfährt, also erst noch eine Behandlung mit einer $^1/_3$%igen Lösung von übermangansaurem Kalium vorausschickt und dann nach Abspülen der Schnitte in Wasser eine energischere Reduktion folgen lässt.

Bei den Versuchen über Neurogliafärbung hat sich dann auch herausgestellt, dass für die blosse Fibrinfärbung eine einfache Lösung von Methylviolett in 70—80%igem Alkohol ohne Zusatz von Anilinöl genügt, namentlich wenn man die in der eben erwähnten Weise mit Mangan behandelten und dann reducirten Schnitte verwendet. Für die bei unserer Methode, wie ich gleich von vornherein angab, auch eintretende Mikroorganismenfärbung hingegen ist eine wässerige Lösung von Methylviolett, namentlich eine solche mit Anilinölzusatz vorzuziehen. Diese Mikroorganismenfärbung bezieht sich auf dieselben Arten wie die klassische GRAM'sche Methode, nur ist sie sicherer und ausgiebiger. Die Mikroorganismen bekommen einen dunkleren Farbenton wie das Fibrin.

Auch die Anilinxylolmischung habe ich bei Gelegenheit der Neurogliafärbung insofern verändert, als ich die Menge des Anilinöls verminderte. Ursprünglich war die Mischung so, dass 2 Theile Anilinöl auf 1 Theil Xylol genommen wurden. Später habe ich Anilinöl und Xylol zu gleichen Theilen benutzt, wodurch eine schonendere, wenn auch etwas langsamere Differenzirung ermöglicht wurde.

Was nun die Bedeutung der Fibrinfärbung, wie sie eben skizzirt wurde, anbetrifft, so handelt es sich dabei nur insofern um eine »Reaktion« auf Fibrin, als eben gerade dieses, und zwar in seinen feinsten Fäserchen hervorgehoben wird. Man kann es daher auch unter Umständen nachweisen, unter denen es sich sonst der Kenntnissnahme entziehen würde. Hingegen darf man ja nicht den Schluss machen, dass nun alles, was sich bei unserer Methode blau färbt, auch Fibrin sein müsste. Ganz abgesehen von Mikroorganismen werden auch viele Kerne blau tingirt, ebenso rothe Blutkörperchen, Keratin, gelegentlich auch Bindegewebe (namentlich in trockenen Paraffinpräparaten), Glykogen (LUBARSCH), Zellgranula (LUBARSCH) etc. Im allgemeinen schadet aber die Mitfärbung derartiger Gewebselemente nicht viel, denn alle die genannten Dinge wird man kaum mit fädigem Fibrin

verwechseln. Nur für die Neuroglia ergeben sich manchmal Schwierigkeiten, auf die wir aber an dieser Stelle nicht näher einzugehen brauchen.

Umgekehrt kann man auch nicht behaupten, dass etwa alle geronnenen Stoffe die Färbungsreaktionen des Fibrins geben sollten. Das geschieht weder bei den echten Verkäsungen, noch bei Koagulationsnekrosen. Ja sogar die Umwandlungsprodukte des fädigen Fibrins brauchen nicht immer die blaue Farbe anzunehmen. Namentlich gilt das für die Substanzen aus dem Sammelbegriff »Hyalin«, die ihren Ursprung von fädigem Fibrin herleiten. Eine Zeit lang färben sie sich zwar nach unserer Methode. aber allmählich verlieren sie die Fähigkeit, die blaue Farbe anzunehmen, resp. festzuhalten. Es ist aber bemerkenswerth, dass andererseits manche der ungefärbt »hyalin« erscheinenden Massen durch die Färbung sich deutlich als aus Fäden bestehend erweisen.

Der wesentliche Werth der Methode liegt also darin, dass man durch Verwendung derselben dem fädigen Fibrin bis in seine verborgensten Fädchen nachgehen kann, die ohne die Färbung namentlich bei Anwesenheit anderer Formbestandtheile sich dem Nachweis entziehen würden.

Wie wir mehrfach hervorgehoben haben, lehnt sich die beschriebene Fibrinfärbungsmethode an die Gram'sche Methode der Mikroorganismenfärbung an. Insofern, als unsere Methode wie diese zur Färbung von Mikroorganismen benutzt wird, ist sie auch als eine Modifikation der Gram'schen Methode zu betrachten, denn hierbei wird im Vergleich zu der letzteren wohl eine Verbesserung erzielt, aber doch nichts wesentlich Neues dargestellt. Wollte man aber die Methode der eigentlichen Fibrinfärbung als eine blosse Modifikation der Gram'schen ansehen, so wäre das ebenso ungerechtfertigt, als wenn man die Gram'sche Methode als eine blosse Modifikation der von mir erfundenen Färbung der Mikroorganismen mit Hilfe von Methylviolett überhaupt auffassen wollte. Ich habe ja zuerst gezeigt (1875). dass es möglich sei, Bakterien durch derartige »kernfärbende Anilinfarben« elektiv zu tingiren, hatte auch bereits darauf hingewiesen, dass es unter Umständen wünschenswerth sei, der Auswaschung durch Alkohol eine Behandlung mit verdünnter Säure (Essigsäure) vorauszuschicken, und so könnte denn ein Missgünstiger auf den Gedanken kommen. die Gram'sche Färbung als eine simple Modifikation meiner Färbungsmethode anzusehen, an die sie sich ja in der That direkt anlehnt. Das wäre aber ganz falsch. Die Gram'sche Methode ist nämlich weit davon entfernt, meine Methode blos sicherer oder ausgiebiger zu machen, sie ist vielmehr ein neues, sehr wichtiges Unterscheidungsmittel grosser Gruppen von Bakterien geworden. von denen sich die einen »jodbeständig« zeigen, während die anderen durch die Benutzung der Jodirung ihre Farbe verlieren. Es handelt sich also wirklich um eine neue Methode.

Aus demselben Grunde ist auch die von mir angegebene Fibrinfärbungsmethode nicht als eine Modifikation der Gram'schen Färbung zu betrachten. an die sie sich ebenso anlehnt. wie diese sich an meine ursprüngliche Bakterienfärbung anlehnte. Auch bei der Fibrinfärbung wurde ein neues Princip in die histologische Technik eingeführt. durch die ein bis dahin nicht elektiv darstellbares Formelement in den Schnitten färberisch hervorgehoben werden konnte. Dieses Princip ist denn auch späterhin für andere Zwecke von verschiedenen Autoren verwendet worden. Ich selbst habe es dann für die Neurogliafärbung verwendet und bei dieser Gelegenheit theils schon veröffentlichte. theils noch in der Entwicklung begriffene Verbesserungen auch der eigentlichen Fibrinfärbungsmethode aufgefunden.

Wie es immer geht, wenn in der wissenschaftlichen Technik ein neues Ziel nicht nur gezeigt. sondern auch als erreichbar hingestellt worden ist,

so hat man sich auch in diesem Falle, nachdem das Problem der Fibrinfärbung erst einmal aufgeworfen und als lösbar erwiesen worden war, vielfach bemüht, theils Verbesserungen an der von mir angegebenen Methode vorzunehmen, theils auf anderen Wegen dasselbe zu erreichen.

Manche der Modifikationen sind so geringfügiger Art, dass es sich nicht verlohnt, auf dieselben einzugehen. Andere sind tiefgreifender. Zu diesen gehören die verschiedenen Veränderungen, die der unermüdliche Methodenforscher UNNA angegeben hat. UNNA hatte gute Gründe, gewisse Uebelstände, die die ursprünglich von mir angegebene Methode gerade für die Haut hatte, abstellen zu wollen. Vor allem störte ihn bei seinen Bakterienuntersuchungen in der Haut der Umstand, dass das Keratin sich durch die von mir mitgetheilte Methode ebenfalls blau färbte, so dass die in der betreffenden Schicht enthaltenen Bakterien nicht hervortraten. Sodann wollte er die etwaige Mitfärbung des leimgebenden Bindegewebes vermeiden. Andere Gründe waren mehr sekundärer Art. UNNA veränderte daher die Methode, ohne sie im Princip anzutasten, doch in allen ihren Unterabtheilungen. Als Farbflüssigkeit benutzte er nicht die Anilinölmischung des Methylvioletts, sondern eine Lösung, die 1,5% des Farbstoffs, 10% Alaun enthielt und die keinen Alkoholzusatz bekommen hatte. Zur Jodirung verwendete er nicht die von mir von der GRAM'schen Färbung her übernommene Jodjodkaliumlösung, sondern eine (immer neu zu improvisirende) Lösung von Jod in Wasserstoffsuperoxyd. Endlich nahm er zur Auswaschung zwar, wie ich, eine Mischung von 2 Theilen Anilin und 1 Theile Xylol, aber er verrieb das Anilinöl vorher mit Goldorange. Hierdurch sollte einmal die Entfärbung leichter von statten gehen und sodann die störende Mitfärbung des Keratins und Kollagens vermieden werden.

Später (1895 a. a. O.) hat er angegeben, dass man statt der Methylviolettlösung auch Methylenblau verwenden könne, wobei er aber wieder die Jodjodkaliumlösung statt der Jodwasserstoffsuperoxydmischung bevorzugte. Zur Auswaschung ging er hierbei wieder auf die reine Anilinölxylolmischung (das heisst ohne Zusatz von Orange) zurück. Gelegentlich hat er auch angegeben, dass man mit Gentianaviolett und Jod behandelte Schnitte statt mit Anilinölxylol auch mit Kampfervasogenanilin entfärben könne, um das Fibrin tingirt zu erhalten.

Von anderen Modifikationen sei noch der von ELISE WOLFF gedacht, die an Stelle des Anilinölzusatzes zur Farbflüssigkeit Lithium carbonicum vorschlug. (2 Theile einer gesättigten Lösung von Lithium carbonicum mit 1 Theil koncentrirter alkoholischer Gentianaviolettlösung. Für Bakterienfärbung kehrt sich das Verhältniss der beiden Lösungen um.)

SABOURAUD beizt die Schnitte (vor der Färbung in Anilinölgentianaviolett) mit einer Mischung, die ausser Wasser 0,5% Tannin und 10% Alkohol enthält. Nach der Färbung werden dann die Schnitte nach seinem Vorschlage zwar auch mit Jod behandelt, aber zuletzt nicht in Anilinölxylol, sondern in einer Mischung von Xylol und Nelkenöl ausgewaschen.

Andere Autoren sind von den für meine Methode geltenden Principien ganz abgewichen und haben versucht, auf anderen Wegen zu demselben Ziel zu gelangen. Auch hier treffen wir wieder UNNA an, der eine neue Färbungsart in zwei Modifikationen (a. a. O.) angegeben hat.

Zunächst benutzte er das von ihm erfundene und nach ihm von anderen Autoren so vielfach und mit so gutem Erfolg verwendete polychrome Methylenblau. In einer Lösung desselben färbt er 15—20 Minuten, spült mit Wasser ab und behandelt dann die Schnitte mit einer starken wässerigen Tanninlösung (33,3%). Darauf erneutes Abspülen in Wasser, Auswaschen in Alkohol etc. Statt des Methylenblau kann man sich nach einer späteren (1895 a. a. O.) Angabe von ihm auch des Karbolfuchsins bedienen. Im

übrigen verfährt man mit diesem in ganz entsprechender Weise. Bei diesen beiden Methoden ist freilich eine Gegenfärbung nicht empfehlenswerth.

Endlich hat KOCKEL das Fibrin auf einem ganz neuen Wege dadurch dargestellt, dass er die Schnitte nach den Principien der von mir angegebenen Markscheidenfärbungsmethode behandelte. Es ist dabei nicht nöthig, dass die Präparate in chromhaltigen Lösungen gehärtet waren, sondern es genügt, wenn man die Schnitte aus wie immer gehärteten Stücken nachträglich mit 1—5%iger Chromsäure beizt. Der Ueberschuss der Chromsäure wird dann herausgewaschen, man färbt darauf mit der von mir für die Markscheidenfärbung empfohlenen Hämatoxylinlösung und differenzirt (unter Kontrolle des Mikroskopes) in der ebenfalls zur Markscheidenfärbung benutzten alkalischen Lösung von rothem Blutlaugensalz. Nachher werden die Schnitte mit 10%iger Alaunlösung gewaschen, wodurch der Untergrund heller wird, und endlich kann man noch mit Karmin oder Safranin eine Kernfärbung hinzufügen. Bei dieser Färbungsmethode wird die störende Mitfärbung von Keratin und Kollagen ebenfalls vermieden. Die Präparate sind auch sehr haltbar.

Auch MALLORY hat das Fibrin mit Hämatoxylin gefärbt, und zwar in der Weise, dass er die Schnitte mit blosser Hämatoxylinlösung färbte, dann mit Eisenchlorid behandelte, dann wieder Hämatoxylin zugab, in Wasser abwusch, mit Eisenchlorid differenzirte etc. (Journ. exper. Med., Vol. V, 1900).

Litteratur: WEIGERT (Fort. Med. 1887), derselbe (Beiträge zur Kenntniss der normalen menschlichen Neuroglia. Festschrift zum 50jährigen Jubiläum des ärztlichen Vereines zu Frankfurt a. M., 1895), UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 16, 1893 und Bd. 20, 1896), WOLFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), SABOURAUD (Ann. de l'Inst. Pasteur, Bd. 6, 1892), KOCKEL (Centr. allgem. Path., Bd. 10, 1899).

Weigert, Frankfurt.

Finder. Unter dem Namen Finder oder auch Objektmarkirer hat man eine ganze Anzahl Apparate oder Vorkehrungen beschrieben, welche dazu dienen sollen, einen bestimmten Punkt in dem mikroskopischen Präparat wiederzufinden. Eine einfache derartige Vorrichtung, die allerdings nur an einem festen viereckigen Mikroskoptisch anzubringen ist, beschreibt DE VESCOVI. Er ritzt nämlich in den Tisch zwei Paar Linien ein, die durch die Mitte gehen und von denen die einen parallel mit den Seiten laufen, während die anderen die Diagonalen bilden. Beide können eventuell mit Farbe, die einen mit weisser, die anderen mit rother angelegt werden. Will man einen bestimmten Punkt markiren, so bringt man einfach da, wo diese Linien die langen Kanten des Objektträgers kreuzen, Marken an in der entsprechenden Farbe und wird so immer die gesuchte Stelle leicht und genau einstellen können.

Einen complicirteren Apparat, der an Stelle des Objektivs eingeschraubt wird und um die zu markirende Stelle mittels einer Diamantspitze einen Kreis zieht, hat SCHIEFFERDECKER beschrieben und ist von WINKEL (Göttingen) zu beziehen. Aehnliche Apparate werden unter dem Namen Objektmarkirer von LEITZ und Finder von ZEISS verfertigt.

Fischleim. Unter diesem Namen versteht man einen Leim, der durch Auskochen von Haut, Darm und Schwimmblase verschiedener Fischarten der unteren Donau gewonnen wird. Er stellt ein vorzügliches Klebemittel dar und wird auch in der Mikrotechnik vielfach verwendet.

Fixation (Theorie und Allgemeines).

„Fixirung" und „Härtung". Untersuchungsrichtungen. Die zwei Aeren in der Geschichte der Fixirungsflüssigkeiten. Die totale Gerinnung der Zellsubstanz als die Bedingung der Fixation. Energisch fällungsfähige Reagentien nicht äquivalent mit den sogenannten „guten" Fixirern. Die Bedeutung der Essigsäure.

„Peripherische“ Wirkungen (Ueberfixation). Diffusion der Fixirungsbestandtheile in das Objekt. Isotonie. Dauer der Fixation. Diffusion aus dem Objekte in die Fixirungsflüssigkeit. „Gute“ Fixation äquivalent mit totaler Gerinnung ohne Schrumpfung. Thierische und pflanzliche Zellen. Der Hoden als Testobjekt für die Fixation. Das Kochen, das Gefrieren, das Trocknen. Fixirung mit vorangehender Narkotisation. Endkonklusionen: rationellste nothwendigste drei Arten der Flüssigkeiten. Litteratur.

Von den Alten wurden die weichen Organe, um sie schnittfähig zu machen, »gehärtet«. In den Achtzigerjahren schlich sich unbemerkt der Begriff »Fixiren« in die histologische Terminologie ein, ein Begriff, der anfangs vollkommen adäquat mit dem des »Härtens« ein und dasselbe besagte, in neuerer Zeit aber eine besondere Bedeutung erlangte. Vom histologischen Usus wird aber der Begriff »Fixiren« eigentlich nicht bestimmt, zumeist blos umschrieben, beziehungsweise dessen Zweck angegeben. Endzweck ist die rasche Abtödtung der lebenden Zellen, dergestalt, dass sie in womöglichst unverändertem Zustande erhalten bleiben. Der in dieser Umschreibung ausgedrückte Zweck, mit dem als solchem ohnehin kein Begriff bestimmt werden kann, bildet an und für sich einen im höchsten Masse unbestimmten Faktor. Der vollständige Mangel einer annehmbaren Definition charakterisirt das illusorische Wesen des unbemerkt emporgetauchten Begriffes der Fixirung. Von den ihm anhaftenden Illusionen befreit, enthält er in Wirklichkeit nichts anderes als den einfacheren Begriff der Alten, die Härtung. Die Begriffe der Härtung und Fixirung künstlich auseinander zu halten, ist in der That nicht statthaft. Schon die bisherigen Untersuchungen stellen es ausser Zweifel, dass die Fixirung in erster Reihe die totale Gerinnung der Zelle bedingt. Diese Gerinnung ist aber äquivalent mit der Härtung der lebenden, weichen Substanz.

Die auf die Fixation bezüglichen Forschungen können der Richtung nach in vier, mehr weniger in einander übergehende Gruppen getheilt werden, deren endgiltige Vereinigung einer nicht fernen Zukunft vorbehalten ist; alle Zeichen deuten darauf hin, dass diese Vereinigung binnen kurzem zustande kommen wird.

Daten über Fixirmittel werden erstens auf Grund histologischer Arbeiten angegeben, in denen wohl von Fixation die Rede ist, aber nur als von einem untergeordneten Hilfsmittel, ohne sie einer eigentlichen Kritik zu würdigen. Diesen gegenüber können diejenigen histologischen Arbeiten gestellt werden, welche einzelne Fixirmittel besonders empfehlen und kritisch beleuchten. Eine ganz abseits stehende Gruppe bilden physiologisch-chemische Untersuchungen, welche, obgleich sie nicht direkt im Interesse der Fixation angestellt wurden, dennoch diesbezüglich wichtige Daten ergeben. Am kleinsten ist schliesslich der Kreis derjenigen Arbeiten, welche die Frage der Fixation in ihrer Gänze zu umfassen oder wenigstens von einer gewissen Seite, jedoch von einem allgemeineren Standpunkt aus zu beleuchten streben. Diese Arbeiten sind in der nachstehenden Litteratur mit * bezeichnet.

Die Quellen der Fehler in diesen Untersuchungen erwachsen naturgemäss umsomehr, je enger der Kreis der Untersuchungen in Hinsicht der Anzahl der Fixirmittel und der untersuchten Objekte, wie auch besonders der Richtungen der Untersuchungsmethoden, histologischen (thierischen und pflanzlichen), physikalischen, chemischen, gezogen ist. Am grössten ist die Möglichkeit eines Irrthumes bei der einseitigen Untersuchung eines Fixirmittels. Eine endgiltige Lösung ist nur von einer gründlichen Vereinigung der drei Richtungen — der histologischen, physikalischen und chemischen — zu erwarten. Ein Werk, das sowohl die histologischen wie auch die physikalischen und chemischen Thatsachen und Faktoren in gleichem Masse

würdigen und umfassen würde, giebt es derzeit noch nicht. Vieles bot uns in dieser Beziehung FISCHER; hauptsächlich ist noch die Verwerthung der von den physikalischen und chemischen Thatsachen ziehbaren Konklusionen in der histologischen Technik übrig.

In der Anwendung der Fixirmittel können zwei Aeren unterschieden werden: die erste, in welcher ausser dem Alkohol und dem beliebten Trocknen die Chromsäure und chromsauren Salze angewandt wurden. Das Moment, welches für die letzteren entschied, war in erster Reihe deren makroskopisch sichtbare geringere schrumpfende Wirkung gegenüber dem Alkohol; besonders verdienten sie infolge der vortheilhaften Härtung des Auges und des Centralnervensystems Beachtung. Die Anwendung dieser Fixirmittel neben beschränktem Gebrauch einiger anderer (Salpetersäure, Sublimat) blieb allgemein vorherrschend bis zu den Achtzigerjahren. FLEMMING, der zuerst eine grössere Reihe von Fixirmitteln von strengeren histologischen Gesichtspunkten kritisirte, führte durch seine auf exakter histologischer Grundlage glücklich zusammengesetzte Flüssigkeit am Ende der Achtzigerjahre einen Wendepunkt herbei.

Die günstige Aufnahme des neuen Mittels gab den Anstoss zu dem Wettstreite der Fixirungsflüssigkeiten, der noch in unseren Tagen in vollem Gange ist und zu einem enormen Anwachsen der empfohlenen Flüssigkeiten führte. Es kann aber nicht geleugnet werden, dass die hervorragende kritische Methode des Meisters bei einem Theile der Forscher in den Hintergrund trat, was häufig zu einer unmotivirten Vermehrung der Fixirmittel führte. Während in FLEMMING's Arbeiten und sogar in der ihm vorangehenden Zeit im allgemeinen die Furcht vor den Kunstprodukten sich sehr lebhaft kundgiebt, waren FLEMMING's streng kritische Untersuchungen eigenthümlicher Weise von entgegengesetzter Wirkung, haben gleichsam die Zweifel einzelner zerstreut und das Vertrauen in die Fixirmittel entschieden gehoben. Einzelne Warnungsrufe verhallen wirkungslos in dieser Zeitströmung, ja es konnte sogar die erste, eine neue Richtung einschlagende streng kritische Arbeit von KAISERLING und GERMER dem Märtyrerthum der Geringschätzung und Nichtbeachtung nicht entgehen.

Obgleich seit frühester Zeit die Fällungserscheinungen bei den Fixationen mehr weniger als beachtungswerth bezeichnet wurden, sind sie ausführlicher und übersichtlicher erst in FISCHER's Untersuchungen erörtert worden.

Es leidet auch theoretisch keinen Zweifel, dass die aus Eiweissarten bestehende Zellmasse, mag sie auch wie immer behandelt werden, auf andere Weise als durch Gerinnung, ausgenommen das Gefrieren und Trocknen, nicht in festen Zustand überführt werden kann. Nun ist aber nicht daran zu zweifeln, dass in den Schnitten die Zellsubstanz in festem Zustande sich befinden muss und mithin den wahren Zweck des Fixirens nur die vollständige Gerinnung bilden kann. Jedes auf einer anderen Basis beruhende Verfahren ist irrationell, da nach einer nicht fällenden Behandlung schliesslich die Nachbehandlung die Fällung herbeiführen muss.

Die Anwendung des reinen Kal. bichrom. und der reinen Osmiumsäure ist also irrationell und hat sich auch in der Praxis nicht bewährt, da diese an sich nicht imstande sind, lebende, frische Organe zum Gerinnen zu bringen. Nicht blos irrationell, sondern zweifellos ein Attentat ist die Anwendung alkalischer Lösungen (Lysol, Laugenalkohol), da diese im Gegensatze zum Zwecke der Fixation die Zellbestandtheile lösen können. Derselben Beurtheilung unterliegen die Säuren, wenn sie für sich, rein angewandt werden, da sie im Ueberschuss ebenfalls lösend wirken können.

Dass es bei der rationellen, beziehungsweise bei der sogenannten »guten« Fixation sich in erster Reihe blos um das totale Gerinnen der

Eiweissstoffe der Zellen handeln kann, geht schon aus mehreren Thatsachen klar hervor. Das Kal. bichrom. ist für sich allein kein Eiweissfäller und dem entsprechend bekanntlich auch kein guter Zellfixirer; Kal. bichrom.-Essigsäure hingegen fällt ausgezeichnet das Eiweiss und ist demgemäss zugleich auch ein hervorragend guter Fixirer. Ebenso auffallend tritt dieses Verhältniss in den Untersuchungen BURCHARDT's hervor, wonach Calcium-Baryum-Cuprum bichromicum gute Kernfixirer sind, was vollkommen mit der eiweissfällenden Fähigkeit dieser Salze übereinstimmt, im Gegensatze zur schlechten Kernfixirung des nicht fällungsfähigen Kal. bichrom.

Ein diesen Thatsachen vollkommen paralleles Beispiel bietet die Osmiumsäure, welche für sich Eiweiss nicht fällt und dementsprechend ein schlechter Zellfixirer ist, während ihre Essigsäurekombinationen ausgezeichnete Eiweissfäller sind und zu den besten Fixirern gehören. TELLYESNICZKY fiel der Umstand auf, dass die Essigsäure nicht nur in denjenigen Fällen, in welchen das Durchsäuern eine Bedingung der Fällung ist, sondern auch bei den meisten Fixationen im allgemeinen vortheilhaft wirkt, was vom chemischen Gesichtspunkte aus sich vollkommen mit der Thatsache deckt, dass bei saurer Reaktion in allen Fällen auch die Fällungen sicherer und vollkommener zustande kommen. In der Folge kommen wir auch noch auf eine andere Bedeutung der Essigsäure zurück.

Der Satz, dass ein gutes und rationelles Fixirmittel nur ein energische Fällungsfähigkeit besitzendes Reagens sein kann, darf nicht umgekehrt werden, d. h. es darf nicht gefolgert werden, dass jedes gut fällende Mittel zugleich auch gut fixire. Eben deshalb geht es vom histologischen Standpunkt aus nicht an, z. B. Sublimat, die FLEMMING'sche Flüssigkeit, Chromsäure und Tannin, wie in FISCHER's dritter Gruppe, zusammen zu fassen, da trotz der ihnen gemeinsamen guten Fällungsfähigkeit ihre histologischen Bilder sich ausserordentlich von einander unterscheiden. Hingegen gehören die Reagentien der zweiten Gruppe FISCHER's — Osmiumsäure, Kal. bichrom., ALTMANN'sche und MÜLLER'sche Flüssigkeit — vollkommen auch den histologischen Thatsachen gemäss, wie dies TELLYESNICZKY auf Grund der histologischen Bilder gefunden hat, zusammen.

Ein augenfälliges Beispiel für die histologisch sehr verschiedene Bedeutung der guten Fäller bietet das Tannin, da die mit ihm vorgenommenen Versuche trotz seiner ausgezeichneten Fällungsfähigkeit ein überaus schlechtes Resultat ergaben, dessen Grund einfach darin zu suchen ist, dass die Diffusionsfähigkeit desselben noch geringer als die des Gummi arabicum ist. Das Tannin dringt demzufolge überhaupt nicht ins Gewebe, die Zellen gehen, sich selbst überlassen, zugrunde, und die Nachbehandlung hat nur mehr Zelltrümmer zu fällen. Schon dieses bisher unbeachtet gebliebene, physikalische Moment zeigt deutlich, dass gute Fällungsfähigkeit nicht allgemein als äquivalent mit guter Fixirungsfähigkeit zu betrachten ist.

Weit schwerer ist die Wirkung derjenigen eiweissfällenden Reagentien zu erklären, welche schlecht fixiren, obgleich ihre Diffusion nichts zu wünschen übrig lässt. Es erwächst demnach eigentlich die Frage, warum ist der eine gute Eiweissfäller ein guter Fixirer und der andere trotz ähnlicher Diffusionsverhältnisse ein schlechter?

Theoretisch liegt zunächst der Gedanke nahe, dass die verschiedene Lösbarkeit der gefällten Substanzen die Unterschiede in der Nachbehandlung hervorrufe, wofür Beispiele in der I. Klasse der III. Gruppe FISCHER's — Alkohol, Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure — zu finden wären. In Wirklichkeit aber bringt nicht die Nachbehandlung die charakteristischen mangelhaften Bilder dieser Fixirer hervor. Erstens ist an Herauslösungen nur bei Schnitten zu denken, da aus den in toto behandelten Objekten das Eiweiss überhaupt nicht diffundiren kann; dann ist es sehr leicht zu beweisen, dass

die charakteristischen Bilder dieser Reagentien auch ohne jede Nachbehandlung der Schnitte erhalten werden, wenn man z. B. Schnitte von in Paraffin gebetteten Objekten unmittelbar in Xylol untersucht; man kann sich auch überzeugen, dass die Reagentien, z. B. Alk. Kali bichrom., schon allein unmittelbar auf die lebende Zelle wirkend, die charakteristischen Deformationen hervorrufen, so wie man dieselben in Schnittpräparaten findet.

Wenn demnach der Grund der Unterschiede weder in dem gemeinsamen Moment des Fällens selbst, noch in der Nachbehandlung zu finden ist, wird unsere Aufmerksamkeit in erster Reihe auf die Entstehungsweise des Fällens gelenkt. Interessanter Weise gelangen wir, wenn wir in dieser Hinsicht alles in Erwägung ziehen, zu dem Schlusse, dass bei der guten Fixation ein gewisser getheilter Verlauf des Fällungsprocesses angenommen werden muss, im Gegensatze zu den unmittelbarer, vehementer fällenden, eigentlich schrumpfend wirkenden Flüssigkeiten. Hinsichtlich der Diffusionsverhältnisse finden wir nämlich, dass gerade bei den besten Fixirern, den Essigsäuregemischen (Kalium bichrom., Osmiumessigsäure) die Wirkung eigentlich gradatim zur Geltung gelangt. Zunächst vollzieht die Essigsäure die Durchsäuerung und theilweise auch die Fällung, und erst später, wenn das nach der ersteren diffundirende Kal. bichrom. oder Osmiumsäure die nöthige Koncentration erreicht hat, kommt die totale Gerinnung zu Stande.

In diesen Fällen wird also die Zelle für die folgende totale Gerinnung von der Essigsäure so zu sagen präparirt, das heisst: durch die rasche Diffusion der Essigsäure werden — was wohl am meisten ins Gewicht fallen mag — die Zellen auch in den tieferen Schichten rasch getödtet, so dass die totale Fällung sich bereits im getödteten Zellleibe vollzieht. Diesen gut fixirenden und gut fällenden Essigsäuregemischen gegenüber wirken die einfachen, energischen Fällungsmittel, z. B. Alkohol, Pikrinsäure, Sublimat, vehement, man könnte sagen, ohne jede Vorsicht, auf die Zelle ein und liefern demgemäss mehr oder weniger geschrumpfte Fällungsbilder.

Wie es scheint, gereicht ihnen ihre unmittelbar in der Zelle zur Geltung gelangende energische Fällungsfähigkeit geradezu zum Nachtheil.

Bei der guten Fixation kommt ja unbedingt die rasche Wirkung in Betracht; es ist aber unter rascher Wirkung in erster Reihe die rasche Tödtung der Zellen zu verstehen, nach welcher mittelbar, sekundär, die totale Fällung zu Stande kommt. Dieses mittelbare Fällen scheint eben den Schlüssel zu dem sogenannten schrumpfungslosen Härten zu ergeben.

Ein Beispiel für die unvortheilhafte Wirkung der unmittelbaren, energischen Fällung bietet auch die allgemein bekannte Erscheinung, die bei der Flemming'schen Flüssigkeit den Gegenstand einer besonderen Kontroverse bildete und kurz peripherische Wirkung genannt werden kann. Flemming erklärt die peripherische Wirkung seiner Flüssigkeit aus der gleichartigen Lichtbrechung der fixirten Kernbestandtheile; Rawitz nimmt eine Zertrümmerung des Chromatins, Drüner einen detritusartigen Zerfall desselben an. Lee nennt diese Erscheinung Ueberfixation. Fischer führt dieselbe, wie auch überhaupt die Wirkung der Chrom-Osmiumessigsäure in erster Reihe auf die Chromsäure zurück. Nun leidet es aber vom histologischen Standpunkt aus keinen Zweifel, dass die Osmiumsäure in der Wirkung der Flemming'schen Flüssigkeit den ersten Rang einnimmt, wofür wohl nichts anderes angeführt zu werden braucht, als dass das histologische Bild der Flemming'scben Flüssigkeit von dem der Chrom Essigsäure wesentlich abweicht, was nothgedrungen auf Rechnung der Osmiumsäure gesetzt werden muss. Am auffallendsten ist aber die hervorragende Rolle der Osmiumsäure beim Zustandekommen der peripherischen Wirkung, woran ein Histologe wohl nie gezweifelt haben mag; nur muss die Erklärung blos dahin modificirt werden, dass diese homogenisirten Bilder nichts anderes sind als die Resul-

tate der durch die Gegenwart der starken Osmiumsäure veränderten Fällungsverhältnisse. Ebensolche homogenisirte Bilder werden auch erzielt, wenn die Objekte erst in reine, nicht fällende Osmiumsäure, in Kal. bichrom. oder auch in Formol gelegt und hernach weiter behandelt werden. Man kann sich in diesem Falle die Sache so vorstellen, dass die Zelleiweisse vor der Gerinnung sich zu den entsprechenden Osmium-Kal. bichrom.-Formolverbindungen homogenisiren und so auch nach den nachträglichen Behandlungen ein einheitlicheres Bild bieten. Dem oben erwähnten parallelen Verhalten der Osmiumsäure und des Kal. bichrom. reiht sich also auch die gemeinsame homogenisirende Eigenschaft derselben an. Diesen zwei Reagentien scheint das Formol in allen Beziehungen sich anzuschliessen. Die Chemiker halten es für keinen Eiweissfäller, mit Säure wirkt es schon eher fällend und besitzt ebenfalls homogenisirende Eigenschaften.

Die Bedeutung desselben bedarf aber noch einer näheren Untersuchung. da es nach Fischer in vielen Beziehungen fällend wirkt, wobei noch die gewiss veränderliche Menge des Ameisensäuregehaltes in Erwägung gezogen werden muss, da der Säuregehalt, wie aus dem Vorausgeschickten folgt, bei der Beurtheilung der Fixationsverhältnisse schwer ins Gewicht fällt.

Die Ursache der Verschiedenheit der Fixation im Innern des Objektes gegenüber den peripherischen Theilen ist leicht zu demonstriren, indem man z. B. in einer Eprouvette auf 1—2 Ccm. unverdünnten Eiweisses vorsichtig fällende Flüssigkeit giesst, wobei sofort eine, der peripherischen Wirkung entsprechende, geronnene Schicht entsteht, oberhalb welcher die Fixirmittel, unterhalb derselben aber das nicht gefällte Eiweiss sich befindet. Es ist überraschend, dass das Eiweiss auch bei den am besten diffundirenden Fällern unter der im Momente des Darübergiessens entstandenen Schichte Tage lang in unverändertem Zustande verbleibt. 96%iger Alkohol lässt erst in 6—7 Tagen eine 2 Cm. hohe Schicht gerinnen; noch langsamer fällt im Wege der Diffusion z. B. koncentrirte Pikrinsäure, 2%ige Chromsäure; etwas rascher in die Tiefe wirkt die Kal. bichrom.-Essigsäureverbindung. Der soeben bezeichnete, 6—7 Tage dauernde Process in der Eprouvette entspricht der in der Histologie nur 1—2 Tage dauernden Fixation, da ja hier die ganze Oberfläche des überdies zumeist kleineren Objektes mit der Fixirungsflüssigkeit in Berührung tritt. Die Diffusionsverhältnisse sind also nicht blos beim Tannin, sondern bei der Fixation überhaupt in Erwägung zu ziehen. Dass die Bestandtheile der Flüssigkeiten im Wege der Diffusion gradatim, mit den grössten Dilutionen beginnend, zur Wirkung gelangen, scheint eben für die in der Tiefe sich befindlichen Gebilde gewissermassen vortheilhaft zu sein. Die Diffusion darf sich natürlich nicht bis zu jener Grenze verlangsamen, unter welcher die Zellen im Innern des Organes, wenn auch nur für eine gewisse Zeit, vollständig sich selbst überlassen bleiben.

Für die von Sjöbring betonte Bedeutung der Isotonie ist bis jetzt noch keinerlei Beweis erbracht, und folgt überdies aus obiger Auseinandersetzung von selbst, dass auch bei Anwendung isotoner Flüssigkeiten, seien diese nun von fällender Wirkung oder nicht, die isotone Flüssigkeit im ersten, wichtigsten Momente der Wirkung blos auf die oberste Schichte des Organes isoton, auf die übrigen Schichten aber nur allmälig und daher im ersten Momente nur in verdünntem Zustande zur Wirkung gelangt. Wenn nun aber die Bedeutung der Isotonie im ersten Zeitpunkt der Wirkung ausgeschlossen ist, kann sie nach vollzogener Gerinnung umsoweniger in Betracht kommen, da ohne Gerinnung von Fixation ja nicht die Rede sein kann. Die erfahrungsgemässe Koncentration der Flüssigkeiten beruht füglich ohnehin auf der unwillkürlichen Berücksichtigung der Diffusion. Wird die bereits erprobte Koncentration erhöht, so wird damit zugleich auch die ungünstige peripherische Wirkung gesteigert, ohne Nutzen für die tieferen Theile. Wird

sie aber herabgesetzt, so wird zwar auch die peripherische Wirkung verringert, aber die damit verbundene Verlangsamung der Diffusion kann dann der Fixation der tieferen Theile nachtheilig werden.

Bei den meisten Flüssigkeiten ist auch der Zeitdauer der Fixation Bedeutung beigelegt worden; es steht aber ausser Zweifel, dass der Fixirer, nachdem er einmal seiner Pflicht, der totalen Gerinnung, entsprochen, selbst die beste Konservirungsflüssigkeit bildet; denn eine Veränderung im Organe ist eben dann ausgeschlossen, wenn es in demselben Medium, in welchem es fixirt wurde, verbleibt, umso möglicher aber, wenn es in neues Medium gebracht wird.

Eine bisher unberührte Frage der Diffusionsverhältnisse bildet die nothwendiger Weise erfolgende Diffusion in entgegengesetzter Richtung, nämlich vom Objekte zur Fixirungsflüssigkeit. Es bedarf daher noch einer Untersuchung, was für Substanzen und in welcher Menge zum Schaden des zu fixirenden Objektes in die Fixirungsflüssigkeit diffundiren. Ueber die Bedeutung dieses Processes möge Folgendes zur Orientirung dienen: Wenn man die Fixirungsflüssigkeiten vom Objekte — z. B. Stierhodenstücke — rein abgiesst, filtrirt und dann in gewohnter Weise in einer Porzellanschale verdampft, sind bei farblosen Fixirmitteln, wie Formol, Sublimat, Alkohol, bräunlich-schwarze Rückstände in bedeutender Menge am Boden der Schale zu bemerken.

Bei den gefärbten Fixirungsflüssigkeiten ist diese Art der Beobachtung unverlässlich. Die verkohlten Rückstände beweisen zunächst, dass es sich um organische Stoffe handelt; nachdem aber diese organischen Stoffe im Fixirmittel in gelöstem Zustande sich befanden, so folgt hieraus, dass sie durch Diffusion aus dem Innern des Objektes stammen, zumal diese Rückstände auch dann erhalten werden, wenn man die Stückchen zur Entfernung der von der Peripherie herrührenden Theile vor dem Einlegen ins Fixirmittel in Kochsalzlösung wiederholt auswäscht. Es kann demnach bei der Fixation auch aus dem Innern des Organes eine beträchtliche Menge organischer Substanzen austreten, abgesehen von der speciell bei Alkohol erfolgenden Auslösung sämmtlicher Fette und den gewiss in allen Fällen diffundirenden anorganischen Stoffen.

Mittels der Kjeldahl'schen Stickstoffbestimmung konnte ich zwar in den Fixirungsflüssigkeiten in den meisten Fällen etwas Stickstoff nachweisen, zweifellos ist dies aber auf die Eiweisse, deren schwerer Diffusion zufolge, nicht zu beziehen. Bei reinem Kal. bichrom., Formol und 2% Salpetersäure kann Eiweiss direkt nachgewiesen werden (Brücke'sche Reaktion, Phosphormolybdänsäure-Reaktion), dies ist aber auf die austretenden Gewebsflüssigkeiten zurückzuführen. In fällenden Flüssigkeiten, wie koncentrirter Pikrinsäure, Sublimat, Flemming'scher Flüssigkeit, Kal. bichrom.-Essigsäure, in welchen das Vorhandensein gelöster Eiweissstoffe nicht anzunehmen ist, sind letztere in der That nicht nachweisbar.

Zur Frage der Fixation müssen schliesslich auch die chemischen und physikalischen Verbindungen herangezogen werden, welche einzelne Bestandtheile der Fixirmittel mit den Eiweissstoffen der Zellen eingehen, unter welchen besonders die Eiweissverbindungen der Osmiumsäure und Kal. bichrom. gewisse Vortheile zu bieten scheinen, wie denn auch die Zellmasse am kompaktesten durch diese Reagentien konservirt wird. Auf Grund dessen bezeichnet Tellyesniczky diese zwei Reagentien als Plasmakonservirer par excellence, zu deren Wirkung neben der Unlöslichkeit auch die Festigkeit ihrer Eiweissverbindungen beitragen dürfte. Mit der Festigkeit verhält es sich aber ebenso, wie mit der Unlöslichkeit; wir können zwar auch der ersteren theoretisch eine Bedeutung beimessen, aber die Verschiedenheiten in der Fixation in der That nicht damit erklären; da ja andere Eiweissverbin-

dungen. die auch unlöslich sind und deren Festigkeit auch nicht geringer zu schätzen ist, doch nicht dasselbe leisten.

Alles deutet darauf hin, dass, von welcher Seite immer die Frage betrachtet wird, es in erster Reihe die oben angedeutete Entstehungsweise der Fällung ist, die uns die beliebten Konservirungen gewährt und in zweiter Reihe kommen die Löslichkeitsverhältnisse und die Widerstandsfähigkeit der gefällten Zellsubstanzen in Betracht, wonach eigentlich die gute Fixation auch in erster Reihe nur als totale Gerinnung ohne Schrumpfung aufzufassen ist. Bei der Beurtheilung dieser Auffassung muss berücksichtigt werden, dass die histologische Fixation eigentlich nur als ein durch die Noth gebotenes Hilfsmittel zu betrachten ist. Es kann uns daher nicht wundern, dass trotz der enormen Bemühungen, mit diesem Hilfsmittel die Frage der lebenden Strukturen zu lösen, die Frage eine ganz und gar offene geblieben ist, worüber man mit Fischer vom Gesichtspunkte der Fällung nichts anderes sagen kann, als dass der ursprünglichen Form diejenigen Theile der Zellen am ähnlichsten bleiben, welche auch im Leben in kompakterem und festerem Zustande waren; natürlich gehen auch diese in einen denaturirten, geronnenen Zustand über.

Aus den von Wasielewski an pflanzlichen Zellen angestellten Untersuchungen ergiebt sich, dass die Fixirungsflüssigkeiten sich pflanzlichen und thierischen Zellen gegenüber auffallend gleichartig verhalten. Er kam nämlich trotz sorgfältigen Suchens nach Verschiedenheiten im Wesentlichen zu demselben Resultate wie Tellyesniczky bei den Zellen des Hodens. Dieses gleichartige Verhalten verdient schon deshalb Beachtung, da demnach die pflanzlichen und thierischen Zellen den zahlreichen untersuchten chemischen Reagentien gegenüber auf gleiche Weise reagiren. Die übereinstimmenden Resultate sind dem Umstande zuzuschreiben, dass in beiden Fällen Zellen von embryonalem Charakter als Versuchsobjekte dienten.

Wie es zwischen embryonalen pflanzlichen und thierischen Zellen keinen wesentlichen Unterschied giebt, giebt es auch in der Fixation gleicher Organe verschiedener Thiere keine nennenswerthe Differenz. Auffallend ist jedoch der Unterschied bei den verschiedenartig differenzirten Zellen ein und desselben Individuums. Eine sehr widerstandsfähige und den Reagentien gegenüber wenig empfindliche Zelle ist z. B. die multipolare Nervenzelle. Am empfindlichsten unter sämmtlichen Zellen des Körpers ist das Ei, wie auch die Zellen des Hodens. Ausser dem parallelen Verhalten der pflanzlichen Zellen hat es sich noch in mehreren Fällen erwiesen, dass zur Beurtheilung der Güte einer Fixirungsflüssigkeit sich im allgemeinen hauptsächlich die Zellen des Hodens vorzüglich eignen. Wenn nämlich ein Fixirmittel die den fällenden Reagentien gegenüber so sehr empfindlichen Hodenzellen gut fixirt, so wird es auch eo ipso die widerstandsfähigeren übrigen Zellen gut fixiren; umkehren jedoch lässt sich dieser Satz nicht. Am schnellsten und sichersten können wir uns also über den Werth eines Fixirmittels orientiren, wenn wir den Hoden als Versuchsobjekt nehmen. Am besten eignet sich natürlich der Hoden des Salamanders oder Tritons, deren Spermatogonien und Spermatocyten die Verunstaltungen, ebenso infolge ihrer Empfindlichkeit wie auch ihrer Grösse am auffallendsten zeigen.

Wahrscheinlich liegt es blos in der Auffassung der gegenwärtigen Zeit, dass das Fällen in kochendem Wasser gegenüber den chemischen Fällungsmitteln ganz in den Hintergrund gedrängt wird, obgleich es unzweifelhaft ebensoviel, wie viele chemische Fixirmittel gewähren kann. Die Fällung des mit Essigsäure durchtränkten frischen Materials durch Kochen dürfte aber zweifellos gute Dienste leisten, und ist gar kein Grund vorhanden, dieses Verfahren nicht anzuwenden, wie es denn auch in neuerer Zeit empfohlen wurde.

Einer ganz anderen Beurtheilung unterliegt das Härten durch Gefrieren. Es wird aber dieses Verfahren nicht, wie es berechtigt erschiene, zur Untersuchung frischer, lebender Organe angewandt, sondern dient eher blos als technischer Kunstgriff zur Beschleunigung des Verfahrens. In Anbetracht dessen, dass beim Gefrieren die Eiweissstoffe nicht nur nicht gefällt, sondern überhaupt nicht denaturirt werden, ferner, dass das Gefrieren nicht einmal die Lebenserscheinungen unbedingt aufhebt, scheint es in der That auffallend, warum gerade diese Methode nicht zur Untersuchung der Verhältnisse lebender Organe grössere Verbreitung gefunden hat, da der Werth der erwähnten Thatsachen durch einzelne Nachtheile nicht wesentlich beeinträchtigt wird.

Bei gerechter Würdigung der verschiedenen Methoden dürfen wir auch des Trocknens nicht vergessen, denn wenn auch durch das Trocknen den Zellen der ungefähr 80% betragende Wassergehalt entzogen wird, und mithin auf ein Erhaltenbleiben der Form nicht zu hoffen ist, so wird dennoch damit etwas erzielt, was ein anderes Verfahren nicht gewährt, nämlich, dass die Zelleiweisse getrocknet, ohne Hinzuthun oder Wegnahme unter das Mikroskop gebracht werden können, was für die chemische Untersuchung der Eiweisse vortheilhaft sein könnte, da die Eiweisse durch das Trocknen weder gefällt noch denaturirt werden. Von diesem Gesichtspunkte aus ist das von Altmann empfohlene Gefrieren und Trocknen im Vakuum rationell, und stehen der Verbreitung dieser Methode gewiss nur technische Schwierigkeiten im Wege.

In ausnahmsweisen Fällen kann auch die von Wasielewski zur Verhinderung der Zellkontraktionen vorgeschlagene Anwendung von Narkoticis vor dem Fixiren von Nutzen sein. Die energische momentane Kontraktion der lebenden isolirten Zelle auf Einwirkung sämmtlicher Fixirmittel ist in der That auffallend, wovon man sich z. B. an mit Nadeln isolirten Ganglienzellen des Ganglion Gasseri des Frosches leicht überzeugen kann. Die im ersten Augenblicke des Kontaktes mit dem Fixirmittel eintretende energische Kontraktion ist zweifellos noch als Reaktion der lebenden Zelle zu betrachten. Die in den Organen gebetteten Zellen scheinen auf die Einwirkung der allmählich diffundirenden Fixirmittel sich minder energisch zu kontrahiren, in ausnahmsweisen Fällen ist dies aber sehr leicht möglich, und wäre dann auch die Anwendung von Narkoticis angezeigt.

Das Fixiren in gasförmigen Medien (Jod, Osmiumsäure, Essigsäure) ist in jeder Hinsicht von untergeordneter Bedeutung, da es blos bei Membranen oder isolirten Zellen in Betracht kommen kann, und die meisten fällenden Reagentien überhaupt nicht flüchtig sind. Die Gilson'sche Fixation mit Osmiumsäure- und Essigsäuredämpfen zu gleicher Zeit ist infolge der fällenden Wirkung dieses Gemisches weit rationeller als die Fixation mit reinen Osmiumdämpfen, da Osmiumsäure für sich ohnehin nicht als Fixirmittel gelten kann. Nichtsdestoweniger liegt kein Grund vor, der Gasfixation irgend eine Bedeutung beizumessen.

Alles zusammengenommen können wir gegenwärtig dem Fixirungsverfahren gegenüber folgenden Standpunkt einnehmen.

Ein Theil der bisher empfohlenen Reagentien muss vom Standpunkte der Gerinnung beiseite gelassen werden: so die nicht fällenden Reagentien, dann die lösend wirkenden alkalischen Medien, wie auch die reinen Säuren, welche zwar Gerinnung hervorrufen, jedoch im Ueberschusse lösend wirken. Auch steht es ausser Zweifel, dass wir nicht einmal die sicher Gerinnung bewirkenden Fixirmittel sämmtlich nöthig haben, ganz abgesehen von den auffallend schrumpfend wirkenden Reagentien. Drei Arten von Fixirmitteln entsprechen vollkommen all den Anforderungen, welche wir an die Fixation überhaupt stellen können.

Bei der Beurtheilung dieser drei Flüssigkeiten handelt es sich nicht darum, inwiefern die eine die andere an »Güte« übertreffe, sondern inwiefern sich dieselben hinsichtlich ihrer Verwendbarkeit einander zu ergänzen vermögen.

Die erste Gruppe dieser unentbehrlichen Flüssigkeiten bilden die Osmiumessigsäurekombinationen, zumal die FLEMMING'sche Flüssigkeit, deren Eigenschaft, die fettartigen Bestandtheile sichtbar zu machen, nicht minder Beachtung verdient, deren Verwendbarkeit aber bekanntlich infolge der schweren Diffusion der Osmiumsäure beschränkt ist. Eine vielfachere Anwendung nebst ausgezeichneter Konservirung der Zellen gewähren die auf Chromsalze-Essigsäurekombinationen beruhenden Flüssigkeiten, zumal das einfache Kal. bichrom.-Essigsäure (100 Ccm. 3%iges Kal. bichrom. 5 Ccm. konc. Essigsäure).

Obgleich die Färbbarkeit der mit letzterem Fixirmittel behandelten Organe weit besser ist als bei den ersteren, ist selbe immerhin bei beiden Gruppen als erschwert zu betrachten und vermögen überdies beide auch selbst die Organe zu färben. Aus diesem Grunde erscheint eine dritte Gruppe nothwendig, welche die besten und leichtesten Färbungen gewähren, ohne selbst die Objekte zu färben. Hierauf beruht die Anwendung des Sublimats und des Formols, aber nicht für sich selbst, sondern wiederum nur mit Essigsäure kombinirt (am einfachsten 100 Ccm. konc. Sublimat, 5 Ccm. konc. Essigsäure — 100 Ccm. Formol, 5 Ccm. konc. Essigsäure).

In diese Gruppe gehört auch der Alkohol, dessen reine Anwendung gegenüber den vorigen mehr aus praktischen Rücksichten berechtigt erscheint; mit Essigsäure angesäuert kann der Fixirungswerth des Alkohols ebenfalls erhöht werden.

Litteratur: Diejenigen Arbeiten, welche die Frage der Fixation von weiteren Gesichtspunkten behandeln, sind mit * bezeichnet. Von den übrigen Arbeiten wurden theils diejenigen, die sich auf eine besondere Empfehlung einzelner Mittel beziehen, hauptsächlich aber diejenigen angegeben, welche zur Beurtheilung der Wirkung der Fixationsmittel herangezogen werden können. Die auf die einzelnen Mittel bezüglichen Daten sind am umfangreichsten in LEE-MAYER, »Grundzüge der mikroskopischen Technik, zweite Auflage, Berlin, 1901«, zusammengestellt.

*ALTMANN (Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen, Leipzig, II. Aufl., 1894), derselbe (Arch. Anat. Phys., 1892 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), derselbe (Arch. Anat. Phys., 1881), J. ARNOLD (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), L. AUERBACH (Organologische Studien, Breslau 1874), BENDA (Verh. anat. Ges., Würzburg 1888), E. VAN BENEDEN (Arch. Biol., Bd. 4, 1883), E. VAN BENEDEN, A. NEYT (Bull. Ac. roy., Bruxelles, Bd. 14, 1887, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), BERTHOLD (Studien über Protoplasmamechanik, 1886), F. BLUM (Zeit. phys. Cemie, Bd. 22), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), derselbe (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), derselbe (Anat. Anz., Bd. 11, 1896), derselbe (Ber. Senck. Naturf. Ges., Frankfurt 1896, ref. Zeit. wiss. Mikr., 1896), TH. BOVERI (Jen. Zeit. Naturw., Bd. 21, 1887, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), TH. BOKORNY (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 20, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), BRASS (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), *E. BURCHARDT (Cellule, Bd. 12, 1897), E. G. BALBIANI (Zool. Anz., Bd. 13, 1890, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), J. B. CARNOY (Cellule, Bd. 2, 1886, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), L. DRÜNER (Jen. Zeit. Nat., Bd. 29, 1895, ref. Zeit. wiss. Mikr., 1895), G. EISEN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), *A. FISCHER (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), derselbe (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), derselbe (Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Kritische Untersuchungen über Technik und Theorie in der neueren Zellforschung, Jena 1899), *W. FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 13, 1877), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 17, 1879), derselbe (Centr. med. Wiss., 1879), derselbe (Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung, Leipzig 1882), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1887), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), M. FLESCH (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), A. VAN GECHUCHTEN (Anat. Anz., Bd. 3, 1888), GRAF (State Hosp. Bull., 1897, ref. Neur. Centr., Bd. 16, 1897), H. S. GAGE (Proc. amer. soc. micr., 1890, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), A. HANNOVER (Arch. Anat. Phys., 1840), M. HEIDENHAIN (Fest. f. KÖLLIKER, Leipzig 1892), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., 1896), HEINE (Zeit. phys. Chemie, Bd. 21, 1896), J. HENLE (Arch. mikr. Anat., Bd. 20, 1882), H. HELD (Arch. Anat. Phys., 1897, Suppl.), derselbe (Arch. Anat. Phys., 1899), *HERMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), derselbe (Ergeb. Anat. Entwick., Bd. 1, 1892 und Bd. 2, 1893), derselbe (Anat. Anz., Bd. 9), HERTWIG (Morph. Jahrb., Bd. 2, 1876), HOYER jun. (Verh. Anat. Ges., Strassburg 1894), HOPPE-SEYLER (Ueber die chemische Zusammensetzung des Eiters, Med.-chem. Unters., H. 4), JANOSIK (Böhm.

Akad. Wiss., Prag 1893), Juliusburger (Neurol. Centr., 1897), *C. Kaiserling und R. Germer (Virch. Arch., Bd. 133, 1893), D. Kellikot (Trans. am. mic soc, Bd. 17, Zeit. wiss. Mikr., 1896), E. Klein (Quart. journ. micr. sc., 1879), A. Kanthak und S. Pigg (ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), A. Kolossow (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), derselbe (Zeit. wiss. Mikr, Bd. 9, 1892), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), Kossel (Sitz. Preuss. Akad. Wiss., Bd. 18 und 19. 1896), F. Krasser (Bot. Centr., Bd. 52, 1892, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), C. Krauss (Trans. amer. mic. soc., Bd. 17, 1896, ref. Zeit. wiss. Mikr., 1896), *Kultschitzky (Zeit. wiss. Mikr, Bd. 4, 1887), A. B. Lee (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), Lo Bianco (Mit. zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), P. Lachi (Monit. zool. ital., 1895, ref. Zeit. wiss. Mikr., 1895), M. Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), G. Mann (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), Marina (Neur. Centr., 1897), A. Mercier (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), B. Nemec (Fünfstück's Beitr. wiss. Bot., Bd. 4, 1900, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), E. Overton (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Perényi (Zool. Anz., Bd. 5, 1882), Rabl (Morph. Jahrb., Bd. 10, 1884), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 11, 1894), B. Rawitz (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895), derselbe (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), O. Rath (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1893), derselbe (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), Fr. Reinke (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894 und Bd. 44, 1895), R. Reimar (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895 und Fort. Med., Bd. 12, 1894), E. Sehrwald (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), A. Souza (Compt. Rend. Soc. Biol., Bd. 4 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), *Sjöbring (Anat. Anz, Bd. 17, 1900), Stowell (Mikrosc., Bd. 4, 1884, Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Schultze (Arch mikr. Anat., Bd. 2, 1866), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), Schultze und Rudneff (Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), A. Schaper (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), Fr. Schwarz (Beitr. Biol. Pflanzen, Bd. 5, 1892), *Tellyesniczky (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Trzebinski (Virch. Arch., Bd. 107, 1887), *Wasielewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Waddington (Journ. Roy. Micr. Soc., London 1883, ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), *C. Weigert (Ergeb. Anat. Entwick., Bd. 3, 1894, Bd. 5, 1896, Bd. 6, 1897 und Bd. 7, 1898), H. Virchow (Arch. mikr. Anat., Bd. 24, 1885), E. Zacharias (Bot. Zeit., 1881), derselbe (Bot. Zeit., 1882), derselbe (Bot. Zeit., 1883), derselbe (Bot. Zeit., 1887), derselbe (Ber. Deutsch. bot. Ges., Bd. 14, 1896), Zenker (Münch. med. Woch., 1894).

von Tellyesniczky, Budapest.

Flagellaten siehe Protozoen.

Flavopurpurin, ein Alizarin der chemischen Fabrik Gauhe & Co. in Eitorf.

Flechtenfarbstoffe. Sehr viele Flechten scheiden Farbstoffe auf ihren Membranen aus; es sind grüne, blaue, rothe und braune bekannt. deren Verhalten gegen eine Reihe von Reagentien, hauptsächlich Kalilauge und Salpetersäure, untersucht ist.

Litteratur: Zimmermann (Botanische Mikrotechnik, 1892), Behrens (Tabellen, 3. Aufl., 1898).

Magnus, Berlin.

Flechtensäure siehe Chrysophansäure.

Flemming'sche Dreifachbehandlung.

Flemming[91]) verwendet eine sogenannte Dreifachbehandlung zur Darstellung der Centralkörper und chromatinlosen Strukturen in Zellen von Gewebsplatten von Salamanderlarven, besonders des parietalen Bauchfells, der Lunge und des Lungenmesenteriums.

Diese Gewebsplatten, welche sich in toto als Präparate benutzen lassen. werden Larven entnommen, die in Flemming'schem oder Hermann-schem Gemisch* fixirt und längere Zeit (ungefähr 2 Monate) darin aufbewahrt sind.**

Darauf kommen sie auf 2—3 Tage in eine wässerige oder schwach alkoholische Lösung von Safranin, welche, falls sie nicht (nach längerem

* Hermann empfiehlt für Salamandra: Platinchlorid von 1% 15 Ccm., Osmiumsäure von 2% 2 Ccm., Eisessig 1 Ccm. Auch Flemming setzt sein eigenes Gemisch, wo es sich um Fixirung von Salamandergeweben handelt, mit nur 2 Theilen 2%iger Osmiumsäure zusammen. Vergl. Flemming'sches Gemisch.

** Wenn die Larven aus den Osmiumgemischen herauskommen, werden sie 24 Stunden lang in fliessendem Wasser ausgewaschen und dann entweder sofort durch Zerzupfen zerlegt oder bis zur Verarbeitung in einem Gemisch von Glycerin, Alkohol und Wasser zu gleichen Theilen aufbewahrt.

Stehen) schon nach Anilinöl riecht, mit etwas Anilinwasser versetzt wird. Sie werden dann in destillirtem Wasser abgewaschen und mit neutralem oder ganz schwach angesäuertem Alkohol ausgezogen, aber nicht so lange, dass nur noch das Chromatin der Kerne gefärbt ist. Das Präparat muss vielmehr etwas »überfärbt« bleiben und darf man daher dem absoluten Alkohol, welchen man zum Ausziehen benutzt, allerhöchstens $^{1}/_{10}$% Salzsäure zusetzen.

Nach kurzem Waschen mit destillirtem Wasser kommen die Objekte dann auf 1—3 Stunden in eine sehr dunkle wässerige Lösung von Gentiana; dann wieder nach kurzem Waschen in destillirtem Wasser in eine koncentrirte oder doch ziemlich starke wässerige Lösung von Orange G, in der sich Farbe aus ihnen löst. Aus dieser werden sie (nach wenigen Minuten, oder, bei sehr dünnen Objekten, auch früher), während noch blaue Farbwolken herausgehen, in absoluten neutralen Alkohol übertragen; worin sie anfangs eine Mischfarbe von Braungelb und Violett, dann mehr reines Violett abgeben. Noch während Reste dieser Farbe austreten, werden sie in ein anderes Schälchen mit absolutem Alkohol und nach kurzem Verweilen darin auf Nelkenöl oder Bergamottöl übertragen. Auch hierin (in Bergamottöl weniger) gehen noch leichte Farbwolken heraus: am besten, bevor dies ganz aufgehört hat, wird in Lack eingeschlossen.

Die Methode will genau abgepasst sein und liefert wechselnde Ergebnisse. Man soll das Chromatin purpurroth, die achromatischen Spindelfäden graubraun, grau oder auch violettgrau, die Centralkörper ebenso oder leicht röthlich gefärbt erhalten. Die Centralkörper und Spindeln geben aber die Farbe sehr leicht ab. Es kommt darauf an, die kurze Zeit abzupassen, wo diese Dinge gerade noch Farbe halten. Daher darf man nicht so lange warten, bis sich keine Farbe mehr aus dem Präparat löst; wobei man dann allerdings zuweilen auch ungleiche Färbungen bekommt, stärkere Reste von Orange in den einen Kernen und Zellen, während andere davon fast frei sind.

Auf welche Weise die Färbung der Centralkörper und Spindelfasern zustande kommt, lässt sich nicht sagen. Nach M. Heidenhain und Flemming[97]) kann es so geschehen, dass durch die Wirkung des sauren Orange auf die im Präparat imprägnirten beiden basischen Vorfarben neue neutrale Farbstoffe entstehen, welche im Ueberschuss des Orange löslich sind.

Darauf gründet sich eine Modifikation der Flemming'schen Dreifachbehandlung von Reinke, welcher durch Mischung von Orange- und Gentianalösung einen neutralen Farbstoff (neutrales Gentiana) herstellt und mit diesem färbt.

Reinke, welcher am gleichen Objekt wie Flemming (Gewebsplatten der Salamanderlarve) gearbeitet hat, verfährt folgendermassen.

Die Objekte werden zunächst 24 Stunden lang in einer koncentrirten Lösung von Kalium sulfurosum gebeizt, dann in Wasser kurz ausgewaschen und 1—2 Stunden lang mit Safranin gefärbt. Darauf kommen sie wieder in Wasser, werden hier gründlich ausgewaschen und dann auf 24 Stunden in ein Gentiana-Orangegemisch gebracht, welches folgendermassen bereitet wird.

Zu einer koncentrirten wässerigen Lösung von Gentiana setzt man einige Tropfen einer ebensolchen Lösung von Orange G. Es bildet sich ein neutraler Farbstoff (neutrales Gentiana, Reinke), der die Lösung trübt. Man verdünnt mit Wasser, wodurch die Lösung wieder so gut wie klar wird.

In die verdünnte, unfiltrirte Lösung bringt man die Objekte auf 24 Stunden hinein, spült sie dann mit Wasser ab, taucht sie kurz in absoluten Alkohol ein und überträgt für kurze Zeit in Nelkenöl.

Das Resultat ist dasselbe wie bei der Flemming'schen Dreifachbehandlung.

Das »neutrale Gentiana« ist nach REINKE in Wasser schwer, in Alkohol leicht löslich. Um es filtriren und konserviren zu können, setzt man zu der Stammlösung $^1/_3$ Volumen Alkohol hinzu. Beim Gebrauch erscheint es aber zweckmässig, diese alkoholische Lösung noch mit Wasser zu verdünnen. Mit ihr bekommt man in kurzer Zeit (wenigen Minuten) die Centralkörper gefärbt, doch ist für sehr gute Präparate eine längere Zeit nothwendig.

Litteratur: FLEMMING (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), FLEMMING (Arch. Anat., 1897), REINKE (Arch. mikr. Anat., Bd. 44, 1895).

Meves, Kiel.

Flemming'sches Gemisch.

FLEMMING'sches Gemisch ist ein Gemisch von Chrom-, Osmium- und Essigsäure.

1882 empfahl FLEMMING eine Mischung von folgender Zusammensetzung:

Chromsäure etwa 0,25% |
Osmiumsäure etwa 0,1% | in Wasser.
Eisessig etwa 0,1% |

Wenn man diese Vorschrift auf einprocentige Lösungen umrechnet, so erhält man folgende Formel:

1%ige Chromsäure 25 Ccm., 1%ige Osmiumsäure 10 Ccm., 1%ige Essigsäure 10 Ccm., destillirtes Wasser 55 Ccm.

Nach FOL thut man gut, weniger Osmiumsäure zu nehmen. Die sogenannte FOL'sche Mischung ist folgendermassen zusammengesetzt:

1%ige Chromsäure 25 Ccm., 1%ige Osmiumsäure 2 Ccm., 1%ige Essigsäure 10 Ccm., destillirtes Wasser 63 Ccm.

Das 1882 von FLEMMING angegebene Gemisch wird gewöhnlich als »schwaches« bezeichnet. Dieses schwache Gemisch wird nun aber auf dem anatomischen Institut in Kiel schon seit mindestens 15 Jahren fast niemals mehr hergestellt, sondern immer nur das sogenannte starke Gemisch. Letzteres hat den Vorzug, dass es in grössere oder festere Objekte besser eindringt. Wenn es angezeigt erscheint, schwächere Gemische zu verwenden, so werden diese durch Verdünnung des starken in unten näher zu beschreibender Weise bereitet.

Die Zusammensetzung des starken Gemisches, welches FLEMMING 1884 bekannt gegeben hat, ist folgende:

1%ige Chromsäure 15 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 4 Ccm., Eisessig 1 Ccm.

HERMANN hat 1889 eine Modifikation des starken FLEMMING'schen Gemisches eingeführt, in welchem die Chromsäure durch Platinchlorid ersetzt war. Für Säugethiere empfahl er: 1%iges Platinchlorid 15 Ccm., 2%ige Osmiumsäure 4 Ccm., Eisessig 1 Ccm.; für Salamandra aber rieth er, den Osmiumgehalt herabzusetzen und nur 2 Ccm. 2%iger Osmiumsäure zu nehmen.

Auch FLEMMING hat später beim Gebrauch seiner Chromosmiumessigsäure, wo es sich um die Fixirung von Salamandergeweben handelte, nur 2 Ccm. 2%iger Osmiumsäure auf 15 Ccm. Chromsäure und 1 Ccm. Eisessig verwandt, ohne dass er jedoch von dieser Aenderung seiner Technik Mittheilung gemacht hätte.

Die gleiche Zusammensetzung des starken FLEMMING'schen Gemisches (mit nur 2 Theilen 2%iger Osmiumsäure) kann ich nach eigener Erfahrung für die Organe vieler Wirbelloser empfehlen.

In dem starken Gemisch werden grössere und dichtere Objekte fixirt; z. B. Hoden, Lymphknoten, Milz von Wirbelthieren, ganze Salamanderlarven etc.

Handelt es sich dagegen um kleine und zarte Objekte oder um Ausstrichpräparate, so wird das starke Gemisch (mit 2, bezw. 4 Theilen 2%iger Osmiumsäure) mit destillirtem Wasser verdünnt, und zwar nach der Be-

schaffenheit des Objekts mit dem gleichen, zwei-, drei- bis zehnfachen Volumen destillirten Wassers; für einige Zwecke können noch stärkere Verdünnungen angezeigt sein.

Verdünnt man das starke Gemisch (mit 4 Theilen 2%iger Osmiumsäure) mit dem doppelten Volumen Wasser, so erhält man eine Lösung, welche mit Bezug auf ihren Gehalt an Chrom- und Osmiumsäure dem schwachen Gemisch von 1882 etwa gleichkommt, mit Bezug auf die Essigsäure noch sehr viel (circa 17mal) stärker ist als dieses.

Das schwache Gemisch selbst wird, wie gesagt, auf dem anatomischen Institut in Kiel kaum noch hergestellt. Dagegen wird es in mehreren neueren Lehrbüchern der mikroskopischen Technik noch immer in erster Linie empfohlen; so z. B. auch in dem vorzüglichen »Taschenbuch der mikroskopischen Technik« von Böhm und Oppel, in welchem das starke Gemisch in kleinem Druck aufgeführt und nur nebensächlich behandelt wird.

Der Grund dafür ist wohl der, dass Flemming in seinen klassischen Arbeiten aus dem Jahre 1891 angiebt, »schwächeres Osmiumgemisch« benutzt zu haben, was die Autoren auf das schwache Gemisch von 1882 bezogen haben.

Thatsächlich aber ist mit dieser Bezeichnung nicht dieses, sondern ein Gemisch gemeint, welches 2 Theile 2%iger Osmiumsäure statt 4 Theilen enthält.

Zur Fixirung empfiehlt es sich nicht, Gemische zu verwenden, die lange gestanden haben, weil bei längerer Aufbewahrung derselben die Osmiumsäure sich leicht verflüchtigt.

Während es im allgemeinen Regel ist, zur Fixirung ein Flüssigkeitsquantum zu nehmen, welches cirka 80—100mal grösser ist als das eingelegte Stück, kommt man bei dem starken Flemming'schen Gemisch mit viel weniger aus. Nach Flemming[84]) braucht die Flüssigkeitsmenge nur etwa 4mal grösser zu sein als das eingelegte Stück, kann jedoch nach Belieben auch grösser sein.

Wenn man dagegen ein schwächeres Gemisch gebraucht, muss man grössere Flüssigkeitsmengen verwenden.

In dem Gemisch bleiben die Stücke mindestens einen Tag, nämlich dann, wenn es sich darum handelt, von einem Objekt möglichst rasch Schnitte zu bekommen; sonst 2—3 Tage; nach Belieben auch Wochen und zuweilen Monate lang. Sie können dabei ohne Schaden am Licht und selbst an der Sonne stehen (Flemming).

In den »Grundzügen der mikroskopischen Technik« von Lee und Mayer (Berlin 1898) wird pag. 33 angegeben, dass man die besten Resultate, soweit gute Fixirung in Frage käme, durch kurze Einwirkung (etwa 1/2 Stunde) des Gemisches erziele. Eine nur 1/2stündige Einwirkung ist aber im allgemeinen sicher viel zu kurz; höchstens für ganz dünne Membranen und für Ausstrichpräparate mag sie genügen.

Flemming hat zwar früher[82]) selbst geschrieben: »Wenn man Osmiumgemische auf lebende Zelltheilungen bringt und nur kurz (etwa 1/2 Stunde) wirken lässt, dann auswäscht und in Wasser untersucht, so hat man Bilder, die den lebenden Theilungen an Zartheit fast ganz entsprechen, nur dass alles um ein weniges verschärft und verdeutlicht ist.«

Man darf aber nicht vergessen, dass Flemming damals mit den ausgeschnittenen dünnen Kiemenblättchen von Salamanderlarven gearbeitet hat. Die gewöhnlichen, in allen Durchmessern mehr oder minder dicken Objekte müssen längere Zeit in der Chromosmiumessigsäure belassen werden.

Bei Stücken, die dicker sind als 0,3—0,5 Cm., wird das Innere zunächst nur von der Essigsäure und dann von der Chromsäure erreicht; die Osmiumsäure dringt in das Innere solcher grösserer Stücke erst später und dann ungenügend oder auch gar nicht ein. Man thut daher gut (Flemming), solche grössere Stücke noch einigemale einzuschneiden.

Nach der Fixirung werden die Objekte in fliessendem Wasser 24 Stunden lang ausgewaschen und hierauf in Alkohol von steigender Koncentration nachgehärtet.

Für das Arbeiten mit dem starken Gemisch ist es durchaus nothwendig, die verschiedenartige Wirkung desselben an der Oberfläche und in der Tiefe eingelegter Stücke zu kennen.

Gesetzt, wir hätten ein dichteres Objekt von einiger Grösse, aber unter 0,3 Cm. Durchmesser, zur Fixirung gewählt, so haben wir auf einem Schnitt folgendes Bild.

An der Peripherie giebt es reine Osmiumwirkung. Reine Osmiumsäurelösung bewirkt eine körnige Koagulirung in der Zellsubstanz und ebenso im Kern. Im Kern der meisten Zellarten macht sie lediglich die Nukleolen deutlich, und zwar in grosser Schärfe, während das Kerngerüst nach ihrer Einwirkung ganz unkenntlich oder doch äusserst blass erscheint und den meisten Chromatinfärbungen Widerstand leistet.

Ein geringer Theil der Osmiumsäure aber geht mit den beiden anderen Säuren ins Innere und diese Kombination erzeugt dort die schönen und scharfen Darstellungen der chromatinhaltigen Kernstrukturen, welche man in gleich ausgezeichneter Weise durch kein anderes Fixirungsmittel erhält.

Will man diese letzteren möglichst durchweg haben, so muss man schwächere Gemische anwenden, muss aber berücksichtigen, dass diese in grössere oder festere Stücke nicht hinreichend eindringen (Flemming [95]).

Litteratur: Flemming (Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung, Leipzig 1882), Fol (Lehrbuch), Flemming (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Hermann (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), derselbe (Ebenda, Bd. 45, 1895). *Meves*, Kiel.

Flimmerepithel. Zum Studium der Flimmerbewegung eignet sich vor allem das Epithel des oberen Abschnittes der Athmungsorgane der höheren Wirbelthiere, ferner das Epithel der Mund- und Rachenhöhle der Amphibien. Nach Lenhossék finden sich die schönsten Flimmerzellen des Wirbelthierkörpers im Nebenhoden des Kaninchens. Ein ausgezeichnetes, durch die Untersuchungen Engelmann's berühmtes Objekt bildet das Kiemenepithel der Lamellibranchiaten und das Darmepithel derselben (Cyclas, Anodonta und Andere). Um das letztere lebend zu erhalten, durchtrennt man den Schliessmuskel und halbirt in physiologischer Kochsalzlösung den Fuss der Länge nach. Es liegt dann die Darmschleimhaut frei zutage. Ausserordentlich grosse Flimmerzellen finden sich nach Frenzel's Angabe im Darm der Larve von Tenthredo salicis, einer Blattwespe.

Die Untersuchung wird natürlich vor allem im frischen Zustand zu erfolgen haben mit einer geeigneten Zusatzflüssigkeit: Physiologische Kochsalzlösung, Seewasser (für marine Lamellibranchier), Humor aqueus, Blutserum etc. Zur Maceration der Epithelzellen leisten Drittelalkohol, 0,1—0,2%iges Osmium, Müller'sche Flüssigkeit (Ewald), Chloralhydrat 2—5%, koncentrirte wässerige Borsäure (Engelmann), eventuell mit etwas Wasser verdünnt, gute Dienste. Zur Fixation eignen sich sowohl Osmiumgemische, als auch Sublimatgemische. Letztere besonders zur Darstellung der Centralkörperchen. Ausserordentlich schöne Resultate an dem Kiemenepithel von Anodonta ergab uns die Johnson-sche Fixationsmethode (siehe Osmiumsäure). Als Färbungsmethode dürfte die Eisenhämatoxylinfärbung mit Rubinnachfärbung wohl die besten Bilder liefern.

Litteratur: Frenzel (Arch. mikr. Anat., Bd. 26, 1886), Ewald (Zeit. Biol., Bd. 34, 1897), Engelmann (Pflüger's Arch., Bd. 23, 1880), von Lenhossék (Verh. Anat. Ges. Kiel, 1898), Gaule (Arch. Physiol., 1881), Henneguy (Arch. d'Anat. micr., Bd. 1, 1898).

Florideen siehe Rhodophycaceen.

Fluoresceïn, Syn. Uranin, gelber Phthaleïnfarbstoff, der in der technischen Färberei wenig benutzt wird, da er keine echten Färbungen ergiebt, aber als Ausgangspunkt für die Darstellung des Eosins von Bedeutung ist. Es wird erhalten durch Erhitzen eines Gemisches von Resorcin und Phthalsäureanhydrid und hat die Formel

$$C\left\{\begin{array}{l}\left.\begin{array}{l}C_6H_3.OH\\C_6H_3.OH\end{array}\right\}O\\C_6H_4.CO.O\end{array}\right.$$

Näheres siehe Eosin.

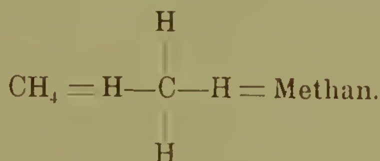
Flusssäure, Fluorwasserstoffsäure, HF. Farbloses Gas von stechendem Geruche, das sich sehr leicht in Wasser löst und so eine an der Luft rauchende, die Schleimhäute angreifende Flüssigkeit abgiebt. Flusssäure wirkt stark ätzend; die Kieselsäure und ihre Salze werden durch Flusssäure zersetzt, hierauf beruht die Verwendung der Flusssäure zum Aetzen des Glases. Infolge dessen darf die flüssige Säure auch nicht in Glasgefässen gehalten werden; man bewahrt sie in Platin- oder Guttaperchaflaschen auf.

Die Verwendung in der Technik beruht auf der erwähnten Eigenschaft, Kieselsäure zu lösen. Mayer bringt Kieselschwämme mit Alkohol in mit Paraffin ausgekleidete Gläser, in die dann vorsichtig tropfenweise Flusssäure eingetropft wird. So gelingt die Entkieselung innerhalb einiger Stunden, höchstens innerhalb eines Tages. Bei der Untersuchung der Tintinnodeen fand von Daday, dass Flusssäure zwar die den Hülsen aufgeklebten Kieselplättchen auflöst, dagegen die Hülsen selbst nicht; hieraus folgt, dass die Hülsen nicht aus Kieselsäure, sondern aus einer chitinartigen Substanz bestehen. Vergleiche auch Diatomeen.

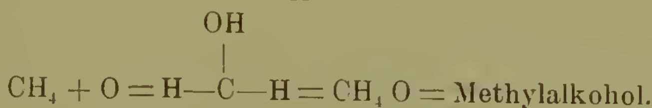
Litteratur: E. v. Daday (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 7, 1887), Mayer (Zool. Anz., 4. Jahrg., 1881). *Mosse*, Berlin.

Foraminiferen siehe Protozoen.

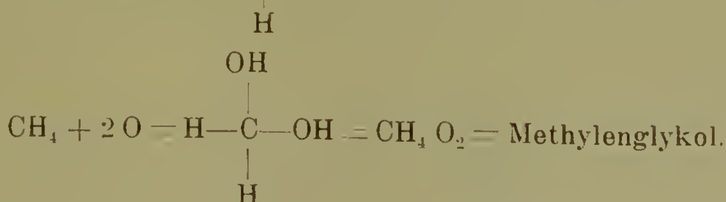
Formaldehyd (Formol, Formalin). Der Formaldehyd, der Aldehyd der Ameisensäure, nach der neueren Nomenklatur Methanal benannt, ist der Aldehyd des Methans, des einfachsten organischen Körpers. Während das Methan (Sumpfgas) nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff zusammengesetzt ist, enthält der Formaldehyd als ein Oxydationsprodukt desselben ausserdem noch Sauerstoff. Die Stellung des Formaldehyds unter den Derivaten des Methans erhellt am besten aus folgender Zusammenstellung:



$CH_4 = H—C(H)(H)—H =$ Methan.

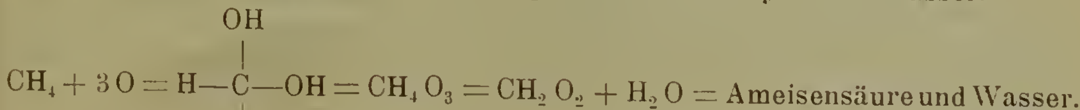


$CH_4 + O = H—C(OH)(H)—H = CH_4O =$ Methylalkohol.

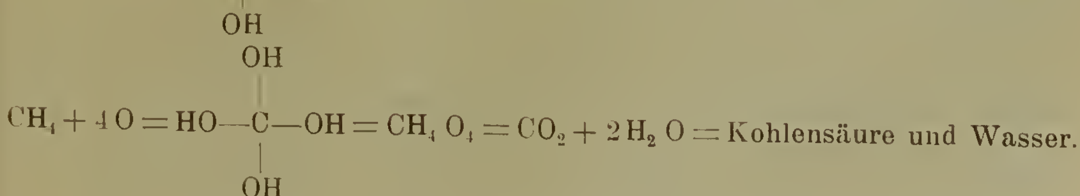


$CH_4 + 2O = H—C(OH)(H)—OH = CH_4O_2 =$ Methylenglykol.

Dies wiederum zerfällt in $CH_2O + H_2O =$ Formaldehyd und Wasser.



$CH_4 + 3O = H—C(OH)(OH)—OH = CH_4O_3 = CH_2O_2 + H_2O =$ Ameisensäure und Wasser.



$CH_4 + 4O = HO—C(OH)(OH)—OH = CH_4O_4 = CO_2 + 2H_2O =$ Kohlensäure und Wasser.

Der Formaldehyd ist also die zweite Oxydationsstufe des Methans.

A. W. Hofmann stellte ihn zuerst im Jahre 1867 dar, indem er Methylalkohol (Holzgeist) und Luft über eine glühende Platinspirale strömen liess. Auch heute, wo der Formaldehyd längst im grossen gewonnen wird, ist seine Bereitungsweise noch eine ähnliche, indem Methylalkohol mit Luft zerstäubt und beim Ueberleiten über glühende Kohle, Ziegelmehl etc. oxydirt wird.

Der Formaldehyd selbst ist ein farbloses, stechend riechendes und die Schleimhäute reizendes Gas. Seine wässerige Lösung, wie sie hauptsächlich unter den Namen Formol und Formalin, aber auch noch unter anderen Bezeichnungen vertrieben wird, enthält zumeist annähernd 40% Formaldehyd zum Theil als absorbirtes Gas, zum anderen in der Form des oben gekennzeichneten Methylenglykols.

Die Verbreitung des Formaldehyds nimmt zur Zeit von Jahr zu Jahr zu; in Deutschland allein werden jetzt cirka 400.000 Kgrm. jährlich dargestellt. Die Verwendung des Präparates ist eine mannigfache sowohl in der chemischen Industrie zur Darstellung zahlreicher Farbstoffe (Rosanilin-, Aurin-, Akridinfarbstoffe u. a. m.) als in der Gerbereitechnik, der Photographie und namentlich auch in der Medicin.

Bei der einfachen Konstitution und bei der grossen Reaktionsfähigkeit des Formaldehyds ist das auch keineswegs erstaunlich. Die Reaktionen vollziehen sich zumeist unter Austritt des Sauerstoffatoms, $O=$, das sich mit zwei Wasserstoffatomen zu H_2O verbindet, und Eintritt der Methylengruppe, $CH_2=$, in die betreffende Verbindung an Stelle der beiden ausgetretenen Wasserstoffatome; jedoch ist hiermit die Umsetzbarkeit des Formaldehyds noch nicht erschöpft.

Die Geschichte des Formaldehyds in Theorie und Praxis der Medicin ist recht interessant:

Noch ehe der Formaldehyd angefangen hatte, für medicinisch-technische Zwecke eine Rolle zu spielen, hatte er durch Baeyer's Theorie, die Pflanze verwandle mittels Reduktionsprocessen die von ihr absorbirte Kohlensäure zu Formaldehyd und baue aus diesem Stärke auf, für die physiologische Forschung eine erhebliche Wichtigkeit bekommen. Loew (Journ. f. prakt. Chem., Bd. 33, und Ber. Deutsch. chem. Ges., Bd. 22, pag. 471) stellte gewissermassen in Bestätigung dieser Theorie in den Jahren 1888 und 1889 durch Kondensation von Formaldehyd in Gegenwart von Kalkmilch einen Zucker dar, den er Formose nannte; unter anderen Versuchsbedingungen gewann er dabei reichlicher ein gährungsfähiges Kohlehydrat, die Methose, die auch E. Fischer (Ber. Deutsch. chem. Ges., Bd. 22, pag. 97) in einer gleichzeitigen Arbeit als Acrose isolirt und beschrieben hat. Acrose aber ist eine dem Traubenzucker sehr nahestehende Zuckerart.

Bedauerlicherweise hat jene geistvolle Assimilationstheorie, die durch die später erkannten keimtödtenden Eigenschaften des freien Formaldehyds durchaus nicht angefochten wird, in der neueren Zeit trotz ihrer inneren Wahrscheinlichkeit der Forschung nur wenig Anregung mehr gebracht.

Loew (Münch. Med. Wochenschr., 1888) war auch der erste, der die antiseptischen Eigenschaften des Formaldehyds erkannt hat. Ihm folgten Buchner und Segall (Münch. Med. Woch., 1889) nach, indem sie die sterilisirende Kraft des gelösten sowie des dampfförmigen Formaldehyds genauer erprobten.

Trillat (Compt. rend., Bd. 114, 1890), dem auch ein Darstellungsverfahren des Formaldehyds zu verdanken ist, führte ihn zuerst in die medicinische Desinfektionstechnik ein, wo er seitdem als Zusatzflüssigkeit zum Zwecke von Dauersterilisirungen und zur Desinfektion in Dampfform eine ausgedehnte, im grossen ganzen berechtigte Anwendung gefunden hat.

Den nächsten Fortschritt auf dem Gebiete der medicinischen Verwendung des Formaldehyds brachte die Beobachtung von Hauser[69, 70]), dass

Gelatine, in der Mikroorganismen gewachsen waren, durch Formaldehyddämpfe so umgewandelt wird, dass sie nicht mehr verflüssigt werden kann und dass auch schon erweichte Gelatine hierdurch wieder fest wird, ohne dass im übrigen eine wesentliche Veränderung mit der Gelatine oder den Mikroorganismen vor sich geht.

Die Einführung des Formaldehyds in die histologische Technik geschah um dieselbe Zeit durch mich (F. Blum[11]) auf Grund meiner Entdeckung, dass verdünnte wässerige Formollösungen (1 : 10) durch eine eigenthümliche Umwandlung der organischen Materie die Gewebe aus ihrem festweichen Aggregatzustande in eine wesentlich härtere Modifikation überführen, wobei weder ihre makroskopische Beschaffenheit noch auch die mikroskopische Struktur und Färbbarkeit wesentlich verändert werden. Ich habe späterhin dargethan, dass jene Umwandlung durch chemisch wohl charakterisirbare Reaktionen des Formaldehyds hauptsächlich mit den Eiweisssubstanzen der Gewebe hervorgerufen wird. Auf diese Verhältnisse soll nachstehend nochmals des genaueren zurückgekommen werden.

Gleichzeitig mit meinen histologischen Untersuchungen erprobte mein Vater (J. Blum) den Formaldehyd als Konservirungsmittel für anatomische, zoologische und botanische Zwecke und führte dann auf Grund seiner günstigen Erfahrungen den Formaldehyd in die Konservirungspraxis ein.[17])

Nach beiden Richtungen hin — sowohl in der histologischen als in der Konservirungstechnik — hat seitdem der Formaldehyd sich eingebürgert und sein Gebiet beständig erweitert. Viele Autoren haben sich an dem Ausbau betheiligt, wie die unten verzeichnete, innerhalb 8 Jahren entstandene Riesenlitteratur beweist; mancherlei Neues ist dabei aufgefunden und mancherlei Altes zum zweitenmale entdeckt worden; unsere — meines Vaters und meine — Angaben haben, wie ich mit grosser Befriedigung aus den Publikationen ersehe, eine weitgehende Bestätigung gefunden, wenn auch recht oft gerade wir beim Citiren der einzelnen Forscher übergangen worden sind.

Worauf beruht die Einwirkung des Formaldehyds auf das Gewebe?

Liegt hier ein physikalischer Process, eine Fällung von Organbestandtheilen in einem im übrigen für die Gewebsstücke indifferenten, nur zur Lösung ungeeigneten Fluidum vor, oder handelt es sich um eine chemische Reaktion, bei der bestimmte Substanzen mit dem in Wasser gelösten Formaldehyd sich so umsetzen, dass dabei konsistentere Körper entstehen?

Ganz fraglos ist, wie ich schon 1896 zeigen konnte, das letztere der Fall!

Der Formaldehyd vermag mit zahlreichen im Körper vorkommenden Stoffen, unter Wasseraustritt, Methylenverbindungen einzugehen; es entsteht, um nur ein Beispiel zu erwähnen, bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Harnstoff eine in Wasser wenig lösliche Verbindung.

Aehnliche Umsetzungen lassen sich noch reichlich anführen, in denen fast stets der Formaldehyd mit Amidogruppen unter Wasserabscheidung zu Methylenverbindungen kondensirt wird. Selbstverständlich können solche im Organismus im Verhältniss zur Gesammtmasse nur spärliche Verbrennungsprodukte, die mit dem Formaldehyd in Reaktion treten, nicht für die Härtung der Gewebe durch Formaldehyd verantwortlich gemacht werden. Hierfür kommen allein die Eiweisskörper in Betracht, die den organischen Hauptbestandtheil des Körpers ausmachen und den Anschauungen über ihre Konstitution nach recht wohl Angriffspunkte für den Formaldehyd bieten. Aus den Spaltungsprodukten hat man z. B. erschlossen, dass die Eiweisskörper Amidogruppen enthalten müssen, die, wie ja schon bemerkt, sich leicht mit dem Formaldehyd zu Methylenverbindungen umwandeln können. Mancherlei

Beobachtungen sprechen übrigens dafür, dass die Umsetzung nicht bei allen Eiweisskörpern gleichmässig verläuft. So viel aber kann man schon a priori annehmen, dass bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Eiweiss Methylenkörper resultiren. Ich habe nun vor einer Reihe von Jahren die Entdeckung gemacht, dass zwar die Eiweisskörper, die die Gewebe zusammensetzen, durch Formaldehyd wasserunlöslich und gehärtet werden, dass jedoch andererseits Eiweissarten existiren, die unter bestimmten Bedingungen vom Formaldehyd nicht nur nicht gefällt, sondern im gewissen Sinne sogar löslicher als vorher gemacht werden. Als solche nenne ich das Serumalbumin und das Ovoalbumin. Beide verändern, mit wässerigen Lösungen von Formaldehyd zusammengebracht, ihre Eigenschaften derartig, dass sie nunmehr auch beim Kochen der Mischung gelöst bleiben. Das ist nicht etwa durch die Anwesenheit von überschüssigem Formaldehyd bedingt, denn diese neue Eigenthümlichkeit bleibt auch bestehen nach vollkommener Entfernung des freien Formaldehyds, sondern es haben sich aus den genannten Albuminen unter der Einwirkung von CH_2O neue Eiweisskörper, die durch Hitze ungerinnbar sind, gebildet. Hierbei wird eine gewisse Menge von Formaldehyd verbraucht.

Spätere Autoren — Bach (Arch. des sciences phys. et nat., Bd. 3, 1897), Benedicenti (Arch. Physiol., 1897), Beckmann (Forschungsberichte über Lebensmittel etc., 1896), Schwarz (Zeit. physiol. Chem., Bd. 31, 1901), Schiff (Liebig's Annal. Chem., Bd. 319) — haben diese Beobachtungen bestätigt und beträchtlich erweitert, indem sie theils dieselben, theils andere Eiweisskörper auf ihr Verhalten gegenüber Formaldehyd prüften und dessen Absorption oder die resultirenden Verbindungen genauer untersuchten. Die gewonnenen Verbindungen wurden von allen Bearbeitern als Methyleneiweisskörper angesprochen.

Was für unsere Zwecke von Wichtigkeit ist, ist der Umstand, dass nunmehr eine ganze Reihe von Eiweisskörpern bekannt sind, die sich mit Formaldehyd umsetzen und dabei ihr physikalisches oder chemisches Verhalten deutlich abändern. So ist z. B. bei dem Ovoalbumin nicht nur die Koagulirbarkeit durch Hitze aufgehoben, sondern es hat sich auch die Fällbarkeit durch Alkohol verändert, indem nur ganz koncentrirter Alkohol einen Niederschlag hervorruft, der im Gegensatz zu der Alkoholfällung des ursprünglichen Ovoalbumins nachher wieder in Wasser löslich ist; die wässerige Lösung aber verhält sich bei dem Formaldehyd vor wie nach der Alkoholbehandlung gleich. Eine Strukturveränderung durch Alkoholfällung findet also nicht statt. Andererseits wird in Wasser lösliche Gelatine bei Einwirkung von Formaldehyd allmählich unter Absorption bestimmter Mengen von Formaldehyd völlig unlöslich.

Alle diese Beobachtungen beweisen eine chemische Einwirkung des Formaldehyds auf die Eiweisskörper, die man sich als eine Methylenirung vorzustellen hat.

Wenn Sjöbring [160]) aus der Aehnlichkeit der Formaldehydfixation mit der Osmiumfixation, aus der Ersetzbarkeit der Osmiumsäure durch Formaldehyd und ferner aus mancherlei histologischen Eigenschaften der fixirten Gewebe zu dem Schlusse kommt, es handle sich bei der Formaldehydfixation um eine Oxydationswirkung, bei der »Formaldehyd mit Wasser unter Abspaltung von einem Molekül Sauerstoff in Methylalkohol nach der Formel $CHOH + H_2O = CH_3OH + O$ reducirt wird, dann zieht er aus seinen anatomischen Befunden einen Schluss auf die Chemie der Formaldehydeinwirkung auf Eiweisskörper, der keinerlei innere Wahrscheinlichkeit besitzt, und für den er auch kaum ein Analogon aus der gesammten Chemie des Formaldehyds oder der Eiweisskörper anführen kann. Man muss vielmehr die Befunde Sjöbring's für zufällig ähnliche Resultate von ihrem Wesen nach ganz verschiedenen Methoden ansehen. Fernerhin wird man sich daran

erinnern, dass manche Autoren (Hilt[175]) die Osmiumsäure sogar für überflüssig bei der Golgi'schen Methode ansehen; gewiss also ein Schluss aus ihrer Ersetzbarkeit durch Formaldehyd nichts für die Art der Einwirkung auf das Gewebe zu beweisen vermag.

Ich muss unter diesen Umständen durchaus darauf beharren, dass die Formaldehydhärtung auf einer Methylenirung der das Gewebe zusammensetzenden Eiweisskörper beruht.

Ist die durch Formaldehyd bewirkte Methylenirung ausschliesslich als eine Fixation zu betrachten, oder ist es berechtigt, daneben von einer Formaldehydhärtung zu sprechen?

Während Sjöbring den Formaldehyd nur als Fixirungsmittel gelten lassen will und ihn hier unter die besten derartigen Präparate einreiht, schreiben z. B. A. B. Lee und Paul Mayer in ihrem Buche: »Während über die Brauchbarkeit des Formaldehyds zum Fixiren die Ansichten der Forscher noch weit auseinandergehen, ist man sich von Anfang an über seine Verwendbarkeit zum Härten der Gewebe nicht im Zweifel gewesen.«

Nun — der Formaldehyd ist sicher sowohl ein Fixations- wie ein Härtungsmittel. Durch seine chemische Einwirkung auf das Gewebe macht er dasselbe z. B. gegen die Koagulation durch Alkohol widerstandsfähig, fixirt die Zellfigur, so dass die bei ausschliesslicher Alkoholhärtung so häufigen Schrumpfungsbilder zum grossen Theil unterbleiben; andererseits werden die meisten Organe und Organderivate dadurch gehärtet, dass die bei der Formaldehydeinwirkung entstehenden Methylenverbindungen unlöslicher sind als ihr Ausgangsmaterial. Es lässt sich somit der Formaldehyd im allgemeinen weder als ausschliessliches Fixations- noch als reines Härtungsmittel ansprechen. Für die meisten Organe ist er beides; für Mucin z. B. ist er jedoch sicherlich kein Härtungsmittel.

Man muss eben den jedesmaligen Einzelfall prüfen: dabei wird man zumeist neben der Fixation die härtenden Eigenschaften des Formaldehyds mehr weniger ausgesprochen finden.

Welche Koncentration und Reaktion sollen die Formaldehydlösungen im allgemeinen besitzen?

Gelegentlich der Einführung des Formaldehyds in die mikroskopische Technik hatte ich die Anwendung einer 4%igen wässerigen Formaldehydlösung (auf das Zehnfache seines Volumens verdünntes Formol) angerathen. Meine damalige Empfehlung stützte sich auf vergleichende Betrachtungen, makroskopische und mikroskopische, von Organstücken, die mit wässerigen Lösungen von 0,4—40% Formaldehydgehalt (Formol 1 : 100 bis koncentrirt) behandelt waren.

In der Folgezeit sind wiederholt schwächere und stärkere Lösungen empfohlen worden; die meisten Autoren aber haben sich meinem ursprünglichen Recepte angeschlossen, so dass heute bei alleiniger Anwendung des Formaldehyds als Fixirungs- respektive Härtungsmittels kaum noch eine andere als 4%ige Formaldehydlösung (Formol, Formalin 1 : 10) angewendet wird.

Parker und Floyd[131]) haben nun, um die Volumzunahme zu vermeiden, die Gehirne bei der Behandlung mit Formaldehyd erfahren, angerathen, eine Mischung anzuwenden von 6 Volumen Alkohol (95%) und 4 Volumen Formol (2%), bei der keinerlei Volumveränderung eintreten soll. Ich habe hiergegen schon 1896[14]) geltend gemacht, dass bei derartig behandelten Gewebstücken, speciell in der Aussenzone, die Strukturbilder anders aussehen als wenn zuerst Formol (1 : 10) und dann Alkohol eingewirkt hat. Alle in der Zwischenzeit gesammelten Erfahrungen haben das Gleiche erwiesen. Wie gering übrigens die von Parker und Floyd gerügte Veränderung nur sein kann, das wird am besten durch die Befunde Flatau's[54]) dargethan, der für Gehirne zu folgender Auf-

stellung gelangt: Konservirt in 96%igem Alkohol Abnahme 34% Gewicht, in $2^1/_2$%igem Kalium bichromicum Zunahme von 32% Gewicht, in 10%igem Formol Zunahme von $1^1/_2$% Gewicht, in 5%igem Formol Zunahme von 9% Gewicht, in 1%igem Formol Zunahme von 23% Gewicht.

Koncentrirte Lösungen von Formaldehyd anzuwenden, hat nur HOYER[75] angerathen und wirft den schwächeren Lösungen vor, dass durch sie eine Quellung des Protoplasmas der Zellen eintritt. LEE bemerkt hierzu: »Indessen waltet hier sicher ein Irrthum ob; ich finde, dass in Präparaten mit $13^1/_3$%igem Formaldehyd (1 Vol. Formol und 3 Vol. Wasser) die Zellen enorm überfixirt sind, und so homogen aussehen wie osmirte Zellen.« Dieser von LEE vermuthete Irrthum liesse sich aus einer Abschwächung der von HOYER benützten Formaldehydlösung (Formalin) durch reichliche Bildung von dem für die Härtung unwirksamen Paraformaldehyd erklären.

SJÖBRING[160]) benützt zum Fixiren das Formol vierfach mit Wasser verdünnt; er kommt zu dieser Koncentration von dem Gesichtspunkte aus, dass eine zweckentsprechende Fixirungsflüssigkeit vor allem mit dem Protoplasma isoton sein müsse, die in obiger Weise zusammengesetzte Flüssigkeit genüge für Säugethiergewebe im allgemeinen jener Bedingung. (Nachhärten in 95%igem Alkohol.) »In dem so behandelten Material ist fast alles, was wir in den Geweben darzustellen wünschen, in ausgezeichneter Weise konservirt, in einer Form, die sich fast überall als die vitale herausstellt.«

WEIGERT[176]) hinwiederum schreibt bei Besprechung seiner Neurogliafärbung bezüglich der vorbereitenden Formolhärtung: »Man hüte sich vor schwächeren Lösungen (NB. 1 : 10); diese fixiren nicht gut genug. Stärkere anzuwenden hat aber auch keinen Zweck, sie leisten auch nicht mehr«. REIMAR[147]), der vergleichende Untersuchungen zwischen 10%igen und 4%igen Formaldehydlösungen an verschiedenen Geweben vorgenommen hat, äussert sich dahin, dass ein irgendwie bemerkenswerther Unterschied nirgends zu ermitteln gewesen sei. »Auf die Isotonie der Formollösungen mit dem Safte der Gewebe hat man bisher so gut wie keine Rücksicht genommen«, schreibt MAYER in seinem mehrfach citirten Lehrbuche (LEE und MAYER) und giebt an, dass er für Seethiere ausschliesslich ein Gemisch von 1 Theil Formol und 9 Theilen Seewasser (also 4%igen Formaldehyd) benützte. »Hierin werden, soweit ich sehen kann, die Gewebe durchaus befriedigend fixirt.«

Dass für die Fixirung der Säugethiergewebe zu histologischen Zwecken die Isotonie, wie sie SJÖBRING (siehe oben) verlangt, keine allzugrosse Rolle spielen kann, vielmehr die gebräuchliche 4%ige Formaldehydlösung (Formol 1 : 10) im allgemeinen ausreichend ist, dafür sprechen einige Erfahrungen, die ich in den letzten Jahren zu machen Gelegenheit hatte:

Härtet man Schilddrüsen der verschiedensten Thierklassen in 1 : 10 Formol, so geht, selbst dann, wenn die Organe nicht in toto, sondern zerlegt eingebracht werden, fast nichts von den in der Thyreoidea enthaltenen Eiweisskörpern in die Flüssigkeit über; der Gewebesaft dieses Organs bleibt also darin und wird fixirt. Ganz ähnlich verhält es sich mit anderen Geweben; auch sie geben nur Spuren ihres Gewebsaftes an die angeblich doch zu dünne Formaldehydlösung ab.

Da nun fernerhin der Formaldehydbehandlung beim histologischen Arbeiten fast stets eine Entwässerung nachfolgt, so dürfte der Isotonie der ersten Lösung kaum eine besonders erhebliche Bedeutung zukommen; es hat vielmehr das mikroskopische Resultat im fertigen Präparat über die Brauchbarkeit der einzelnen Lösungen zu entscheideu, und dieses hat, Einzelfälle ausgenommen, für die Verwendung einer ungefähr 4%igen wässerigen Formaldehydlösung gesprochen.

Schwache Lösungen (1—2% Formalin) zu gebrauchen zu dem Zwecke, sonst nicht deutlich sichtbare Zellen zur Schwellung zu bringen und dadurch

sichtbar zu machen, räth KENYON[86] an, der im übrigen 4—8%ige Formalinlösung oder Formalinalkohol am geeignetsten für histologische Zwecke befunden hat. Zu einem ähnlichen Resultat ist auch GEROTA[59] gelangt, der wässerige Formollösungen von 4—6% oder alkoholische von 3—5% zur Gewebfixation, für das Centralnervensystem aber 5—10%iges Formol empfiehlt. Zur Konservirung behufs Demonstration etc., worauf einzugehen nicht meine Aufgabe ist, sind die Formaldehydlösungen in sehr wechselnden Koncentrationen und mit mannigfaltigen Zusätzen mit und ohne Glück zusammengesetzt worden.

Was die Reaktion der käuflichen Formaldehydlösungen angeht, so ist dieselbe ausnahmslos eine sauere durch bei der Herstellung entstandene, beigemengte Ameisensäure. Ein Nachtheil hat sich, wenigstens für die histologische Verwerthung des Formaldehyds hieraus bisher, soweit ich sehe, nicht ergeben. Immerhin möge nicht unerwähnt bleiben, dass NEUFVILLE[125] der Ameisensäure eine Steigerung der koagulirenden Eigenschaften des Formaldehyds (sicher mit Recht!) zugeschrieben hat und dass MANN[110] bei der Vorbehandlung der Neurofibrillendarstellung ausdrücklich neutrales Formol anwendet.

MANN giebt an, er habe durch Stehenlassen über Magnesium- oder Natriumcarbonat das Formol neutralisirt. Offenbar hat MANN hier sein Verfahren nicht ausführlich beschrieben, da solche Lösungen stets doch einen Ueberschuss des Alkali aufnehmen würden.

Specielles Verhalten des Formaldehyds gegenüber einzelnen Geweben; Verwendbarkeit der mit Formaldehyd vorbehandelten Gewebe in der mikroskopischen Technik.

In Beziehung auf die Brauchbarkeit des Formaldehyds in wässeriger Lösung zum Fixiren und Härten der einzelnen Gewebe herrscht — soviel mir die Durchsicht der Literatur ergiebt — immer noch eine ziemlich weitgehende Divergenz der Meinungen.

Während SJÖBRING, wie oben angeführt, die der vitalen Struktur durchaus entsprechende Fixirung fast aller Gewebe rühmend hervorhebt, kommt LEE zu dem Resultat, dass »der Formaldehyd allein (NB. in 2—4%iger wässeriger Lösung) durchaus ungeeignet für cytologische Untersuchungen sei.« Ob LEE hier von einer ausschliesslichen »Behandlung« mit der Formaldehydlösung, ohne nachträgliche Entwässerung mittelst Alkohol spricht, ist mir aus Fassung und Zusammenhang nicht ersichtlich geworden. Die meisten übrigen Autoren stehen mit ihrem Urtheil in der Mitte zwischen diesen beiden Extremen. Im Folgenden seien einige derselben angeführt:

REIMAR (l. c. pag. 17)[147] schreibt: »Fasst man alles zusammen, so kann man über den Werth des Formols sagen, dass es in Bezug auf Protoplasmafixirung dem Alkohol bedeutend überlegen ist, während Sublimat ungefähr in der Mitte zwischen ihnen steht, und dass es mit HERMANN'scher Mischung ziemlich gleichwerthig ist. Alkohol giebt grobkörnige Protoplasmagerinnung etc. Sublimat giebt eine feinkörnige Gerinnung etc., Formol eine homogene oder sehr feine Gerinnung mit der besten Formerhaltung.«

»In Bezug auf Kernfixirung steht in erster Linie HERMANN'sche Mischung (respektive die ihr ähnlichen Lösungen FLEMMING, RABL u. a.). Gute Resultate giebt auch Sublimat in kleineren Stücken, während Formol auch in grösseren Stücken die Kernstruktur gut erhält. Alkohol giebt unregelmässige und verzerrte Chromatinfiguren.«

»Man kann daher sagen, dass Formol mit zu den besten und einfachsten Fixirmitteln gehört, dass es die Gewebe in einer den natürlichen Verhältnissen am meisten nahekommenden Weise erhält, wenn es auch kein Universalmittel ist.«

Gerota (l. c.)[59]) sagt: »Das Formol wirkt günstiger auf das Protoplasma der Zellen und auf das Albumin, als der Alkohol und das Sublimat; das Protoplasma wird nur wenig gefällt und bildet ein weniger opakes Koagulum.

Das Formol ist nicht für alle Gewebe zu verwenden; aber im allgemeinen ist es besser als der Alkohol, kommt dem Sublimat und der Osmiumsäure gleich oder übertrifft sie in der Fixirung der Kerne.

Es fixirt am besten die Gestalt der Blutkörperchen. aber es löst das Hämoglobin.

Das Formol ist für das Studium des Centralnervensystems vortheilhafter, als das Kaliumbichromat«.

Giuseppe dell' Isola[77]) fasst sein Urtheil dahin zusammen:

»1. Es ist nicht richtig, dass das Formalin den Organen ihre natürliche Farbe erhalte; es ist deutlich festgestellt, dass es die rothen Blutkörperchen und das Hämoglobin zerstört, alle Pigmente angreift und zerstört, mit Ausnahme der schwarzen, die wir in der Chorioidea des Auges und in der Malpighi'schen Schicht der Haut wiederfinden.

2. Formol wirkt schädlich auf Bindegewebe und Muskeigewebe und ist daher bei den Organen, wo diese Gewebe verherrschen, zu vermeiden (Uterus, Herz, Muskel. Lymphdrüsen).

3. Es ist zur Härtung von Embryonen nicht zu verwenden. Dasselbe gilt von den Eiern, die ungewöhnlich hart werden.

4. Es konservirt wunderbar die Struktur des Protoplasmas und des Kerns und kann angewendet werden beim Studium der Organe, bei denen Zellvermehrung stattfindet, weil es die karyokinetischen Figuren erhält.

5. Es fixirt sehr gut die Schleimhäute und Epithelien.

6. Es ist durchaus erforderlich, beim Studium des Centralnervensystems die Mischung von Formolbichromat (eine Lösung von Kaliumbichromat von 10% und Formol von 10% zu gleichen Theilen) zu Hilfe zu nehmen für 1 bis 2 oder 3 Tage, mit darauffolgendem Einlegen in Silbernitrat von 0·75% für 2 oder mehr Tage, sowohl bei ausgewachsenen wie bei embryonalen Organen; dasselbe gilt für die Weigert'sche Färbung.«

Lubarsch[109]) äussert sich folgendermassen: »Ich selbst kann auf Grund ausgedehnter Erfahrungen das Formol als Fixirungsmittel sehr empfehlen und mich im grossen und ganzen den Ausführungen Reimar's anschliessen. Gerade für die Zwecke des pathologischen Histologen scheint sie (die Wirkung des Formols) eine ausgezeichnete zu sein, weil sie nicht nur alle besonderen Gewebsstrukturen erhält, sondern auch alle Färbungsmethoden gestattet. Sie ist insoferne eine förmliche Universalmethode, die nach meinen Erfahrungen nur Nachtheile hat: 1. für den Glykogennachweis, 2. für den Nachweis feinster Protoplasmastrukturen, 3. durch die allerdings nicht unbedeutenden Schrumpfungen, die das Formol namentlich an Leichenmaterial hervorruft. Doch theilt sie diesen Nachtheil mit fast allen übrigen Methoden, die dafür ausserdem noch andere Nachtheile besitzen.«

Wenn dell' Isola in seiner ersten These den Satz aufstellt, dass die rothen Blutkörperchen und das Hämoglobin von dem Formaldehyd zerstört werden, und wenn Gerota zwar nicht bezüglich der Blutkörperchen, aber bezüglich des Hämoglobins sich ähnlich ausspricht, so ist dieses Urtheil nicht vollständig durch die Thatsachen gerechtfertigt. Es bildet vielleicht einen Hauptvorzug der Formaldehydbehandlung, dass Blutkörperchen und Blutfarbstoff in einer ganz ausgezeichneten Weise konservirt werden, wofern man nur nicht allzu verdünnte Lösungen anwendet oder koncentrirtere nicht allzulange einwirken lässt. Beachtet man diese Vorsicht, dann kann man sich leicht von der Erhaltung auch des Hämoglobins überzeugen. Bringt man nämlich die in der Formaldehydlösung scheinbar ihres Blutfarbstoffes

verlustig gegangenen Gewebe in Alkohol, so ändert sich schon nach kurzer Zeit — oft nach wenigen Minuten — das gesammte Aussehen: die Farbe des Gewebes wird eine lebhaftere, es nähert sich das Bild demjenigen des frischen Präparates und der verschwunden gewesene Blutfarbstoff tritt allmählich in aller Deutlichkeit, oftmals mit schön sattrother Farbe zu Tage. Dementsprechend zeigt das mikroskopische Präparat wohlausgebildete und nur wenig schwächer als bei frischer Entnahme gefärbte Blutkörpercben. Eine Auslaugung von Blutfarbstoff findet bei Verwendung der 4%igen Formaldehydlösung (Formol, Formalin 1 : 10) nur in ganz geringem Masse statt; bei schwächeren Koncentrationen ist sie entsprechend intensiver. Eine Zerstörung des Blutfarbstoffes auf Nimmerwiedersehen durch allzulange Einwirkung des Formaldehyds tritt frühestens nach monatelangem Verweilen in der Flüssigkeit und auch hier nicht regelmässig ein. Immerhin hat man diese Möglichkeit beim Arbeiten mit Formaldehyd zu berücksichtigen.

Das merkwürdige Verhalten des Blutfarbstoffes — sein Verschwinden und seine Rückkehr — haben wir (mein Vater und ich) schon bei unseren ersten Versuchen mit Formaldehyd entdeckt und bereits im Jahre 1893 und später zu wiederholten Malen beschrieben.[12, 13, 14, 17, 18, 19])

Melnikow-Raswedenkow[115–119]), der irrthümlich glaubte, im Jahre 1895 die genannte Entdeckung als Erster gemacht zu haben, und sie 1897 veröffentlichte, Jores[79]). Kaiserling[81, 82]), Pick[135–137]) u. a. haben, an unsere Beobachtung des Verbaltens des Blutfarbstoffes anknüpfend, Konservirungsverfahren für anatomische Präparate unter Verwendung geeigneter Salzzusätze etc. ausgearbeitet, die für manche makroskopische Zwecke mehr zu leisten scheinen, als unser einfaches, die histologische Verwendung nicht beschränkendes Formaldehyd-Alkohol-Verfahren. Worauf die beschriebene Umwandlung des Hämoglobins beruht, ist zur Zeit trotz der Feststellung des spektroskopischen Verhaltens in den verschiedenen Stadien (Melnikow-Raswedenkow, Kaiserling) noch keineswegs geklärt; ich möchte am ehesten glauben, dass es sich auch hier um die Bildung eines methylenirten Derivates handelt, das bei Wasserentziehung seine bräunliche Farbe in Roth umändert.

Sehr erwähnenswerth ist das Verhalten der Cornea bei der Formaldehydhärtung; sie bewahrt, wie mein Vater gezeigt hat, ihre Durchsichtigkeit und nimmt gleichzeitig an Konsistenz beträchtlich zu; dadurch wird das Auge in einer wunderbaren Naturtreue erhalten (J. Blum, Hermann, Guaita, Retzius, Andogsky u. a.), während es in seiner Gewebstruktur zudem vorzüglich fixirt wird.

Auch Schleimgewebe verändert sich kaum; wirkt dann aber Alkohol darauf, so tritt die gleiche Schrumpfung ein, wie bei ausschliesslicher Alkoholbehandlung.

Fett wird von Formaldehyd nicht verändert; eine Fettgeschwulst wird kaum gehärtet, obwohl die Fettzelle als solche gut fixirt wird. Hier muss die Nachbehandlung die Schnittfähigkeit erst herstellen.

Als Ergebniss der zahlreichen Untersuchungen lässt sich aussprechen, dass der Formaldehyd als Vorbereitungsmittel zur histologischen Untersuchung für kein Organ oder Gewebe unbrauchbar ist; dass er aber in vielen Fällen Gleiches und Besseres leistet wie die anderen Fixirungsmittel.

Fast zu einem Universalmittel wird der Formaldehyd dadurch erhoben, dass man die mit ihm vorbehandelten Gewebe den allermeisten Fixirungen, Beizen, Imprägnationen und Färbungen nachträglich noch unterwerfen kann. Die Fixirung und Härtung mittels Formaldehyd und nachträgliche Entwässerung durch Alkohol (96%igen) habe ich[11, 12]) an einer grossen Reihe von normalen und pathologischen Geweben erprobt. An Gehirn fand van Gieson[60]) diese Methode für manche Zwecke geeignet und rühmt, dass das

Myelin gut erhalten bleibe. Aehnlich berichtet GEROTA[59]), der Gehirne in toto einlegte, bei manchen ausserdem Injektionen von den Gefässen aus vornahm.

DÖLKEN[40]) ist wohl der einzige Autor, der planmässig die Nachbehandlung mit Alkohol zu umgehen suchte. Er setzt den Formaldehydlösungen nachträglich solche Stoffe zu, die mit Formaldehyd feste Kondensationsprodukte bilden, z. B. Resorcin mit etwas Glycerin und einige Tropfen Schwefelsäure. Die Masse erstarrt in kurzer Zeit und Schnittfähigkeit ist vorbanden. Irgend einen Vortheil gegenüber den sonst gebräuchlichen Methoden dürfte dies Verfahren kaum bieten. Für die Zwecke seiner Neurogliafärbung behandelt WEIGERT[176]) mit Formaldehyd vor und legt dann in eine wässerige Lösung von Kupferacetat, Chromalaun und Essigsäure ein. Nach SCARPATETTI[154]) gelingt die WEIGERT-VASSALE'sche Methode vorzüglich an Schnitten, die von Präparaten nach Formolhärtung kommen, ohne vorheriges Einlegen in MÜLLER'sche Flüssigkeit oder Chromsäure. Schnitte von Rückenmark oder Gehirn, welche 3 Tage bis mehrere Monate in 5—10%iger Formollösung gelegen hatten und in 95%igem Alkohol nachgehärtet worden waren, wurden direkt aus dem Alkohol in 1%ige Hämatoxylinlösung gebracht Nach 5 Minuten in koncentrirte, neutrale Kupferacetatlösung für 5 Minuten: dann Abspülen in Wasser, Differenzirung in einer Mischung von 2 Natriumbiboracicum, 2·5 Ferricyankalium und 100 destillirten Wassers; Abspülen in koncentrirtem Lithiumkarbonat, Abspülen, Einschluss: die Achsencylinder sind gefärbt, jedoch nicht die Markscheiden. Die Fasern lassen sich bis in die Rinde verfolgen; die Tangentialfasern sind deutlich gefärbt. Es färben sich ausserdem die Ganglienzellen und die Gliazellen der Gehirnrinde. Degenerationsherde werden scharf markirt; Zellkern und Gefässinhalt werden schwarzblau gefärbt. In MÜLLER'sche Flüssigkeit nachträglich einzulegen, haben mehrere Autoren empfohlen. Hierzu schreibt jedoch EDINGER[45]): »Es ist in letzter Zeit mehrfach die Angabe gemacht worden, dass man durch Nachbehandlung der Formolstücke (1 : 10 Formol) mit MÜLLER'scher Flüssigkeit diese Stücke zur Markscheidenfärbung verwenden könne. Aber die Resultate sind, soweit ich sie nachprüfte, doch recht mangelhaft gewesen. Vortreffliche, immer gut durchgebeizte Stücke aber erhält man, wenn man nach einem neuen Verfahren von WEIGERT vorgeht: die Gehirne kommen 3—4 Tage in Formol — sie können auch Monate lang da bleiben —, dann werden sie etwas abgewaschen und eingelegt in WEIGERT'sche Flüssigkeit: Kal. bichrom. 5·0, Alumen chromicum 2·0, Aqua ad 100. Da bleiben sie — in der Kühle — 5 Tage etwa. Das reicht zu völligem Eindringen der Chromsalze aus. Dann Alkohol, Einbetten, Kupfern nach bestimmten Vorschriften, Schneiden.

BOLTON[20, 21]) härtet zunächst mehrere Wochen bis Monate in 5%iger Formalinlösung; dann trägt er Stücke von $^1/_4$ Zoll im Quadrat und höchstens $^1/_8$ Zoll Dicke in 0·5—2%ige Ammoniumbichromatlösung für 1—5 Tage ein; dann folgt für 24 Stunden das Silberbad (1%ige Silbernitratlösung).

GUDDEN[65]) härtet zunächst mit 5—10%iger Formollösung, dann mit 96%igem Alkohol, bettet in Celloidin ein, schneidet und behandelt die Schnitte während 10 Stunden mit 0·55%iger Chromsäure, um sie hierauf nun nach WEIGERT zu färben.

Auch für die GOLGI'sche Methode ist das zuerst mit Formaldehyd gehärtete Material nicht verloren (HOYER jun.[75]), ja es vermag der Formaldehyd sogar nach LACHI[99]), DELL'ISOLA[77]), DURIG[43]), FISH[51]) die Osmiumsäure bei dem schnellen GOLGI'schen Verfahren zu ersetzen. Von Färbungen ist, soviel ich sehe, bis jetzt keine bekannt gegeben worden, die an Formaldehydpräparaten unmöglich wäre. Ich selbst[11]) konnte berichten, dass die mit Formaldehyd gehärteten und mit Alkohol entwässerten Gewebe für Hämatoxylin, sowie Anilinfarben, speciell auch für WEIGERT'sche Fibrin-

Mikroorganismenfärbung empfänglich bleiben. REIMAR[147]), der, wie oben erwähnt, Formaldehydpräparate in Vergleich mit Sublimat- und Alkoholpräparaten zog, fand sie färbbar durch Karmine, Hämatoxyline und Anilinfarbstoffe. Leukocyten liessen deutlich die eosinophilen, wie die basophilen Granulationen erkennen. VAN GIESON[60]), LACHI (l. c.), DELL' ISOLA (l. c.) haben mit Erfolg die WEIGERT'sche, MARCUS[113]) die WEIGERT-PAL'sche Methode am Nervengewebe, das mittels Formaldehyd gehärtet war, angewendet. SIEMERLING[159]) rügt allerdings, dass wochenlanges Verweilen in Formol (1:10) Gehirne ungeeignet zur Zellfärbung mit Anilinfarben mache; die Schnitte nehmen dann den Farbstoff schlecht an. Ferner bilde sich eine Randzone, welche makroskopisch eine ungewohnte graugelbe Färbung zeige und eine vollständige Fixation der tangentialen Fasern mit den üblichen Methoden der Markscheidenfärbung nicht zulasse.

Bei der vitalen Methylenblaufärbung haben RAMON-Y-CAJAL[144]) und PLOSCHKO[143]) nachträglich die Schnitte in 10⁰/₀ige Formollösung eingebracht und auf diese Weise die Schnitte gehärtet. BENDA[5 u. 6]) behandelt zur Darstellung der durch Anilinfarben darstellbaren Nervenzellstrukturen die Gewebstücke zuerst 3 Tage lang mit Alkohol (95⁰/₀) und hierauf $^1/_4$ bis 24 Stunden mit 1⁰/₀iger Formaldehydlösung, dann schneidet er auf dem Gefriermikrotom.

Zu erwähnen bleiben mir noch die zahlreichen Mischungen, die mit Formaldehyd vorgenommen und für specielle Zwecke dienstbar gemacht worden sind, auf die des genaueren einzugehen jedoch nicht meine Aufgabe ist.

Formaldehyd-Alkohol.

Dass PARKER und FLOYD (l. c.) eine Formol-Alkoholmischung: Alkohol (95⁰/₀) 6 Vol., Formol (2⁰/₀) 4 Vol., für Gehirne empfohlen haben, ist schon früher angeführt; auch KENYON (l. c.) hält für histologische Zwecke eine alkoholische Formaldehydlösung für besser. In ähnlichem Sinne haben sich einige andere Autoren, die ich nicht sämmtlich hier anführen kann, geäussert, ohne jedoch von einem Vorzug des mikroskopischen Bildes dieser Präparate gegenüber den erst mit Formaldehyd und dann mit Alkohol behandelten Geweben Ueberzeugendes berichten zu können. Zur Fixirung von Blutdeckglaspräparaten hat BENARIO[4]) den Formaldehydalkohol empfohlen (1 Formol + 9 Wasser + 90 Alkohol). GULLAND[66]), der sich sehr ausführlich mit diesem Thema beschäftigt hat, bevorzugt eine 10⁰/₀ige alkoholische Formollösung und Färbung besonders mit Eosin und Methylenblau.

MARINA[114]) behandelt das Centralnervensystem mit einem (frischen) Gemisch von 100 Ccm. 90⁰/₀igen Alkohols, 5 Ccm. Formol und 0,1 Grm. Chromsäure und wechselt täglich (im ganzen 4—8mal), wäscht dann mit 45⁰/₀igem Alkohol aus, schneidet und färbt nach NISSL, HELD oder WEIGERT.

Formaldehyd-Kalium-, resp. Ammoniumbichromat.

Eine Mischung von Formaldehyd mit MÜLLER'scher Flüssigkeit ist von mehreren Seiten empfohlen worden. ORTH[129]) verwendet auf 100 Theile MÜLLER'scher Flüssigkeit 10 Theile Formol. Nach diesem Recepte wird das Gemisch meistens bereitet. SIEMERLING (l. c.) macht darauf aufmerksam, dass auch bei Vorhärtung in jenem Gemische doch noch eine Nachbehandlung mit MÜLLER'scher Flüssigkeit nöthig sei und dass jeder einzelne Schnitt in 0,5⁰/₀ige Chromsäurelösung gelegt werden müsse. Die weitere Färbung nach WEIGERT oder WEIGERT-PAL gehe in der gewöhnlichen Weise vor sich. Andere Autoren hinwiederum haben speciell für das Centralnervensystem Gemische von anderer procentiger Zusammensetzung empfohlen. DURIG[43]) z. B. legt $^1/_2$ Cm. dicke Stücke für 3 Tage in eine wässerige Lösung von Formol (4—6 Procent) und Kaliumbichromat (3 Procent); FISH (l. c.) gebraucht:
MÜLLER'S Fluid 100 Ccm., Formalin 10⁰/₀ 2 Ccm., Osmic acid 1⁰/₀ 2 Ccm.

Formaldehyd-Pikrinsäure.

Die Beobachtung, dass Pikrinsäure sehr gut fixirt, aber die Affinität für Hämatoxylin herabsetzt, während andererseits die Formalinmethode die feinsten Zellstrukturen zerstört, aber vortreffliche Färbungsverhältnisse bietet, brachte GRAF[62]) zur Kombination beider Mittel. Er gebraucht 5 verschiedene Mischungen:

1. 1 Vol. in Wasser gesättigte Pikrinsäure und 1 Vol. 5%ige Formollösung, 2. 1 Vol. in Wasser gesättigte Pikrinsäure und 1 Vol. 10%ige Formollösung, 3. 1 Vol. in Wasser gesättigte Pinkrinsäure und 1 Vol. 15%ige Formollösung, 4. 95 Vol. in Wasser gesättigte Pikrinsäure und 5 Vol. koncentrirte Formollösung, 5. 90 Vol. in Wasser gesättige Pikrinsäure und 10 Vol. koncentrirte Formollösung. Fixirung $^1/_2$ bis 2 Stunden, dann Härtung in allmählich koncentrirterem Alkohol (Untersuchungsobjekt eine gewisse Blutegelart).

Die mit dieser Methode zur Anschauung gebrachten Einzelheiten in der Zellstruktur sind nach den Beschreibungen und den beigegebenen Abbildungen ausgezeichnet.

MANN (l. c.) behandelt das Centralnervensystem mit einer Lösung von 5 Ccm. Formol, 1 Grm. Pikrinsäure und 2,5 Grm. Sublimat in 100 Ccm. Wasser und vermochte hiernach sogar die Fibrillen der Nervenzellen schön darzustellen.

Formaldehyd-Zinkchlorid.

FISH (l. c.) empfiehlt: Water 200 Ccm., Formalin 50 Ccm., Sodium chloride 100 grams, Zinc chloride 15 grams.

In dieser Flüssigkeit belässt er Gehirne 7—10 Tage und länger, injicirt eventuell auch die Gefässe damit, überträgt dann in $2^1/_2$%ige wässerige Formalinlösung und von da in andere fixirende Agentien »with most excellent results«.

Formaldehyd-Kupfersulfat.

NELIS fixirt Spinalganglien 24 Stunden lang in einem Gemisch von 1 Liter 7%igen Formols und 5 Ccm. Eisessig, worin 20 Grm. Kupfersulfat und Sublimat bis zur Sättigung aufgelöst sind. Es soll die Zellen nicht schrumpfen lassen und alle Färbungen erlauben.

Formaldehyd-Platinchlorid.

BOUIN[24, 25]) verwendet in der HERMANN'schen Flüssigkeit an Stelle der Osmiumsäure Formol.

RETTERER[149]) hat Verknöcherungen am Knorpel untersucht, der 6 bis 12 Stunden in 50 Vol. 5%iger Lösung von Platinchlorid, 50 Vol. Formol und 3 Vol. Essigsäure gelegen hat und dann lange mit Wasser abgespült worden war.

Formaldehyd-Farblösungen.

WERMSEL[178]) wendet für Blutpräparate und Mikroorganismen die Methode von BENARIO (s. o.) an, vereinfacht sie aber, indem er Fixirung und Färbung zusammenzieht. Ausser Fuchsin, das ausfiel, lösten sich alle untersuchten Farbstoffe in dem Formol. Als die besten Formolfarblösungen empfiehlt WERMSEL:

1. Methylenblau, gesättigte wässerige Lösung 20 Ccm., Formol 2,5%ige wässerige Lösung 100 Ccm.

In Bezug auf die Koncentration der Farbstoffe entspricht diese Lösung der LÖFFLER'schen. Diese Farblösung wurde als Universalfärbemethode benutzt.

2. Eosin F. Eosin (bläulich), 1%ige Lösung in 60%igem Alkohol 100 Ccm., Formol 10%ige wässerige Lösung 20 Ccm. Zum Färben von Blut.

3. Methylenblau F. B. Methylenblau, gesättigte wässerige Lösung 1 Theil. Formol, 4%ige wässerige Lösung 1 Theil. Färbung für Eiter und Gonokokken im Harnsediment.

4. Gentianaviolett F. (Zur Färbung nach Gram.) Gentianaviolett, 10%ige alkoholische Lösung 10 Ccm. Formol, 2,5%ige wässerige Lösung 100 Ccm.

NB. Die Koncentration des Formols spielt keine grosse Rolle. Alle Farblösungen in Formol müssen in dunklen Gefässen gehalten werden.

Ohlmacher[127]) hatte schon früher ähnliche Versuche angestellt. Er rühmt seine Mischung und hebt hervor, dass sie sich auch für Schnittpräparate eignet.

Schnellhärtung mittels Formaldehyd.

Der Formaldehyd ist auch zum Zwecke rascher Fertigstellung von mikroskopischen Präparaten nutzbar gemacht worden, und zwar haben die einen Autoren zuerst die 4%ige Formaldehydlösung auf kleine Gewebsstücke einwirken lassen und alsbald danach auf dem Gefriermikrotom geschnitten (Cullen[33 u. 34], Plenge[141 u. 142]), während die andern (Pick[135 u. 136] und andere) in umgekehrter Weise vorgegangen sind, indem sie zunächst auf dem Gefriermikrotom Schnitte anfertigten und diese dann in Formaldehydlösung brachten. Da das letztere Verfahren mir für die Zwecke der Schnellanfertigung mikroskopischer Dauerpräparate einige Vortheile zu bieten scheint, gebe ich hier die Vorschrift von Pick wieder, bei deren Innehaltung man allerdings in überraschend kurzer Zeit (6—8 Minuten) zum Ziele kommt.

1. Anfertigung der Gefrierschnitte mit Jung's Hobelmikrotom.
2. Uebertragen in 4%ige Formaldehydlösung bis 1/4 Minute.
3. Formaldehydalaunkarmin 2—3 Minuten.
4. Auswaschen in Wasser 1/2 Minute.
5. Alkohol von 80% 1/2 Minute.
6. Absoluter Alkohol 10 Sekunden.
7. Karbolxylol 1/2 Minute
8. Kanadabalsam.

Der käufliche Formaldehyd, seine Benennung und seine Beschaffenheit.

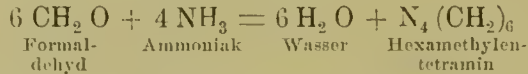
Der Formaldehyd wird seit seiner Einführung in der Medicin unter den verschiedensten Bezeichnungen vertrieben; zwei davon haben sich Eingang in die histologische Litteratur verschafft: Formol und Formalin. Nachdem nun aber die deutsche Pharmakopöe beide Namen hat fallen lassen und nur von dem Formaldehydum solutum spricht, halte ich es für an der Zeit, dass auch in den Publikationen die Benennungen Formol und Formalin verschwinden und nur mehr über den Formaldehydum solutum, den gelösten Formaldehyd berichtet wird.

Unter Formaldehydum solutum hat man alsdann eine koncentrirte wässerige Lösung zu verstehen, die ungefähr 40 Procent Formaldehyd enthalten soll

Wer genau eingestellte Formaldehydlösungen verwenden will, wird gut thun, die Stammlösung auf ihre Stärke zu prüfen, da der käufliche, gelöste, angeblich 40%ige Formaldehyd nicht selten durch Bildung und Ausfallen von Paraformaldehyd wesentlich an Gehalt eingebüsst hat.

Die Prüfung geschieht durch Versetzen und Stehenlassen einer genau gemessenen Formaldehydprobe mit titrirter Ammoniaklösung im Ueberschuss in einer Flasche mit eingeschliffenem Glasstopfen unter Zusatz von etwas Wasser. Nach einigen Stunden giebt man quantitativ dem Gemische soviel

Normalsalzsäure zu, dass die Lösung stark sauer reagirt. Nunmehr wird unter Benutzung von Cochenilletinktur als Indikator mit Normallauge zurücktitrirt. Der Endpunkt ist erreicht, sobald das Gelb der Flüssigkeit in Roth umschlägt. Aus der Differenz der verbrauchten Normallauge und Normalsalzsäure lässt sich erkennen, wie viel Ammoniak noch (zum Binden der Säure) frei war; hieraus hinwiederum wie viel Ammoniak vom Formaldehyd absorbirt war. Da nun die Reaktion zwischen Formaldehyd und Ammoniak sich nach der Gleichung vollzieht:



$$6\,CH_2O + 4\,NH_3 = 6\,H_2O + N_4(CH_2)_6$$

so entspricht jedem verbrauchten Molekül Ammoniak 1,5 Molekül vorhandenen Formaldehyds oder, da das Molekulargewicht des Ammoniaks 17, dasjenige des Formaldehyds 30 ist, ist für je eine Gewichtseinheit (z. B. Gramm) verbrauchten Ammoniaks $\frac{45}{17} = 2{,}647$ Grm. Formaldehyd zu setzen.

Dass die käuflichen Formaldehydlösungen stets durch Ameisensäure sauer reagiren, ist schon erwähnt. Soll das ausgeglichen werden, so neutralisirt man am besten mittels Lauge oder Soda unter Tüpfelung auf Lackmuspapier.

Zusammenfassung.

Der Formaldehyd hat sich seit seiner Einführung in die histologische Technik als ein äusserst brauchbares Fixirungs- und Härtungsmittel erwiesen. Die Einwirkung auf die Gewebe beruht auf einer Methylenirung hauptsächlich der Eiweisskörper.

Die für histologische Zwecke brauchbarste Koncentration der wässerigen Formaldehydlösung, Specialfälle ausgenommen, ist eine solche mit 4 Procent Formaldehyd = 10 Procent Formaldehydum solutum. Es empfiehlt sich aber der Einfachheit halber, die Stärke einer Lösung nicht nach dem darin enthaltenen gasförmigen Formaldehyd, resp. Methylenglykol anzugeben, sondern unter Fallenlassen aller Handelsnamen ausschliesslich nach den zugesetzten Volumprocenten von Formaldehydum solutum, d. i. die käufliche 40⁰/₀ige Formaldehydlösung. Da das Gewebe aus der umgebenden Lösung Formaldehyd absorbirt, ist stets für eine reichliche Flüssigkeitsmenge Sorge zu tragen, um dem Formaldehyd von allen Seiten Zutritt zu verschaffen — am besten, indem man das Gewebe von den Gefässwänden fernhält: bei Gehirnen z. B. durch Aufhängen an der Art. basil. nach Deltrius. Das Zehnfache an zugesetzter Formaldehydlösung dürfte im allgemeinen genügen. Die gebrauchten Lösungen können durch Ergänzung des verloren gegangenen Formaldehyds wieder nutzbar gemacht werden.

Mit Formaldehyd behandelte Gewebe sind fast für alle anderen Fixirungs- und Härtungsmethoden nachträglich noch zugängig. Auch für Imprägnationen und Färbungen bleiben die Gewebe tauglich. Während für die Erhaltung der gröberen Gewebs- und Zellstruktur selbst jahrelanges Verweilen in Formaldehydlösungen unschädlich ist, empfiehlt es sich, bei feineren histologischen Untersuchungen die Gewebstücke nicht länger als einige Wochen in der Lösung zu belassen.

Litteratur: 1) Alleger (Proc. Amer. Micr. Soc., Vol. 15, 1894), 2) Andoosky (Arch. Augenheilk., Bd. 30, 1895), 3) v. Bardeleben (Verh. Ges. deutsch. Nat., 68. Vers., II. Theil), 4) Benario (Deutsch. med. Woch., 1894), 5) Benda (Neurol. Centr., Jg. 14, 1895), 6) derselbe (Centr. allgem. Path., Bd. 6, 1895), 7) Beroonzoli (Boll. del Naturalista, Jahrg. 16, Fasc. 1, und Boll. scient., Jahrg. 17, Nr. 1, pag. 26), 8) Bethe (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), 9) Betti (Boll. del Naturalista, Jahrg. 19, 1899), 10) Blanchard (Bull. Soc. Zool. France, Bd. 20, 1895), 11) F. Blum (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), 12) derselbe (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), 13) derselbe (Münch. med. Woch., 1894), 14) derselbe (Anat. Anz., Bd. 11, 1896), 15) derselbe (Amer. Natur., Bd. 31, 1897), 16) derselbe (Berl. klin. Woch., Jahrg. 38, 1901), 17) J. Blum (Zool.

Anz., 1893), [18]) derselbe (Ber. d. Senckenberg. naturf. Ges. Frankf., 1894), [19]) derselbe (Ber. d. Senckenberg. naturf. Ges. Frankf., 1896), [20]) Bolton (Brit. med. Journ., 1898), [21]) derselbe (Lancet, 1898), [22]) Born (Schles. Ges. vaterl. Kultur, 1894), [23]) Bouin (Arch. d'Anat. Micr., Bd. 1, 1897), [24]) derselbe (Bibliogr. Anat., Bd. 6, 1898), [25]) derselbe (Arch. Biol., Bd. 17, 1901), [26]) Branca (Journ. Anat. et Phys., Bd. 25, 1899), [27]) Busch (Neurol. Centr., Jahrg. 15, 1896), [28]) Chenzinsky (Centr. allgem. Path., Bd. 7, 1896), [29]) Coats (Journ. of Path. Bact., 1894), [30]) Cohn (Bot. Centr, Bd. 57, 1894), [31]) A Comparative Anatomist (Amer. Natur., Bd. 31, 1897), [32]) Corning (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), [33]) Cullen (Centr. allg. Path., Bd. 6, 1895), [34]) derselbe (Bull. John Hopkins Hosp., Bd. 8), [35]) Dall (Science, N. S., Bd. 6), [36]) von Davidoff (Anat. Anz., Bd. 11, 1896). [37]) Deetjen (Münch. med. Woch., 1897), [38]) derselbe (Centr. Bakt, Bd. 23, 1898), [39]) Devereux Marshall (Tr. Ophthal. Soc. United Kingdom, Bd. 5, 1895), [40]) Döllken (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [41]) du Bois (Arch. Sc. Phys., Genève 1899), [42]) Duboscq (Arch. Zool. expér., [3], Bd 6, 1899), [43]) Durig (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [44]) Eccles (Brit. med. Journ., Bd. 1, 1894), [45]) Edinger (Artikel »Methoden der Untersuchungen« in Schmidt's Jahresbücher, Bd. 246, 1895), [46]) Ehlers (Verh. deutsch. zool. Ges., Leipzig 1894), [47]) Eisler (Verh. Anat. Ges., Berlin 1895), [48]) Escherich (Entomol. Nachrichten, Jahrg. 22, 1896), [49]) Fabre-Domergue (Bull. Mus. d'Hist. natur., Paris 1895), [50]) Fischer (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [51]) Fish (Proc. Amer. Micr. Soc., Bd. 17, 1895), [52]) Flatau (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), [53]) Forssmann (Brit. Journ. dent. Soc., Bd. 38), [54]) Fränkel (Münch. med. Woch., 41. Jahrg., 1894), [55]) Freeborn (New York med. Journ., Bd. 63), [56]) Fülleborn (Zool. Anz., 1901), [57]) Gage (Micr. Bull. Sc. News, Bd. 12, 1895), [58]) Gerota (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), [59]) derselbe (Journ. intern. Anat. Phys., Bd. 13, 1896), [60]) van Gieson (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [61]) Gottstein (Hyg. Rund., 1894), [62]) Graf (State hosp. Bull. New York 1897. Ref. i. Centr. allg. Path., Bd 9, 1898), [63]) Grönroos (Anat. Anz., Bd. 15, 1888), [64]) Guaita (Sperimentale, 1894), [65]) Gudden (Neurol. Centr., Jahrgang 16, 1897), [66]) Gulland (Scottish Med. Surg. Journ., Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [67]) Gumprecht (Centr. innere Med., 1896), [68]) Harvey (Medicine, Bd. 4), [69]) Hauser (Münch. med. Woch., 40. Jahrg., 1893), [70]) derselbe (Münch. med. Woch., 40. Jahrg., 1893), [71]) Hermann (Anat. Anz., Bd. 9, 1893), [72]) Hodenpyl (Med. Rec., 1898), [73]) Hofer (Verh. deutsch. zool. Ges., Leipzig 1894), [74]) Hornell (Natur. Science, Bd. 7, 1895), [75]) Hoyer jun. (Verh. Anat. Ges., Strassburg 1894), [76]) Huber (Journ. appl. Microsc., Bd. 1), [77]) Dell' Isola (Boll. R. Ac. med. Genova, Bd. 10, 1895), [78]) Jelgersman (Psychiatr. en Neurol. Bladen, 1891), [79]) Jores (Centr. allgem. Path., Bd. 7, 1896), [80]) v. Kahlden (ebenda, Bd. 6, 1895), [81]) Kaiserling (Berl. klin. Woch, 32. Jahrg., 1896), [82]) derselbe (Verh. Ges. deutsch. Naturf., München 1899), [83]) Keibel (Anat. Anz., Bd. 15, 1899, Nachtrag, ebenda), [84]) Keith (Proc. Anat. Soc. Great Britain und Journ. Anat. Phys., Bd. 30, N. S., Bd. 10), [85]) Kellicotti (Microscope [N. S.], Bd. 4, 1896), [86]) Kenyon (Amer. Natur., Bd. 29, 1895), [87]) derselbe (Amer. Natur., Bd. 31, 1897), [88]) derselbe (Science, N. S., Bd. 6), [89]) Kitschel (New York Med. Journ., Bd. 57, 1895), [90]) Klunzinger (Jahresber. Ver. vaterl. Naturk. i. Württemberg, 54. Jahrg., 1898), [91]) Köhler et Lumière frères (Bibliog. Anat., 1895), [92]) Kopsch (Anat. Anz., Bd. 11, 1896), [93]) derselbe (Verh. Anat. Ges., Berlin 1895), [94]) Krauss (Microscope [N. S.], Bd. 4, 1896), [95]) Kronthal (Neurol. Centr., 1899), [96]) Krückmann (Centr. Bakt., Bd. 15, 1894), [97]) derselbe (Klin. Mon. Augenheilk., 32. Jahrg., 1894), [98]) derselbe (ebenda), [99]) Lachi (Monit. Zool. Ital., 6. Jahrg., 1895), [100]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), [101]) Lanwer (Diss. inaug. Freiburg, Bremen 1899), [102]) Lanzillotti-Buonsanti (Mon. Zool. Ital., 5. Jahrg., 1894), [103]) derselbe (Atti Assoc. Med. Lombarda, 1894), [104]) Leber (Münch. med. Woch., 1894), [105]) Lee (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), [106]) Lee und Mayer (Grundzüge), [107]) Lenartz (Leitfaden der Mikroskopie und Chemie am Krankenbett, 1895), [108]) Linsbauer (Sitz. zool. bot. Ges. Wien, Bd. 44, 1894), [109]) Lubarsch (Technik, in: Ergebnisse der allgem. pathol. Morphologie und Physiologie, herausgeg. von Lubarsch und Ostertag, 1895), [110]) Mann (Verh. anat. Ges. zu Kiel, 1898), [111]) Maignan (C. R. Soc. Biol., Bd. 5 [10. Série], 1898), [112]) Marcano (Arch. Méd. expér., Sér. 1, T. 11), [113]) Marcus (Neurol. Centr., 14. Jahrg., 1895), [114]) Marina (Neurol. Centr., Bd. 16, 1897), [115]) Melnikow-Raswedenkow (Centr. allgem. Path., Bd. 7, 1896), [116]) derselbe (Beitr. path. Anat., Bd. 21, 1897), [117]) derselbe (Centr. allgem. Path., Bd. 8, 1897), [118]) derselbe (ebenda, Bd. 9, 1898), [119]) derselbe (ebenda, Bd. 11, 1900), [120]) Milani (Zool. Anz, 1897), [121]) Minakow (Centr. allgem. Path., Bd. 8, 1897), [122]) Monti (Rendic. Ist. Lomb., Ser. 2 und Gazz. Med. Lombarda, 57. Jahrg.), [123]) Murbach (Journ. appl. Microscop, Bd. 3, 1900), [124]) Neufville (Bull. Soc. philomat., 1898/99), [125]) derselbe (Bull. Mus. d'histoire natur., 1899), [126]) Nicolas (Bibl. Anat., 1895), [127]) Ohlmacher (Med. News, 1895, vergl. Centr. Bakt., Bd. 18, 1895), [128]) De Oliveira (Ann. Sc. nat. Porto, 2. Jahrg., 1895), [129]) Orth (Berl. klin. Woch., 1896), [130]) Osipow (Neurol. Bote, 1897, Bd. 5, Ref. Mon. Psych., Bd. 3), [131]) Parker and Floyd (Anat. Anz., Bd. 11, 1895), [132]) derselbe (ebenda, Bd. 11, 1896), [133]) Penzig (Malpighia, 1894), [134]) Pfister (Neurol. Centr., 17. Jahrg., 1898), [135]) Pick (Gynäkol. Centr., Bd. 20, 1896), [136]) derselbe (Gynäkol. Centr., Bd. 22, 1898), [137]) derselbe (Berl. klin. Woch., 37. Jahrg., 1900), [138]) Pilliet (C. R. Soc. Biol., [S. 10], T. 2, 1895), [139]) derselbe (C. R. Soc. Biol. [10], T. 4, 1897), [140]) Pintner (Verh. zool. bot. Ges. Wien, Bd. 44, 1894), [141]) Plenge (Münch. med. Woch., 1896), [142]) derselbe (Virch. Arch., Bd. 144, 1896), [143]) Ploschko (Anat. Anz., Bd. 13, 1897), [144]) Ramon-y-Cajal (Rev. Trimestr. Micr. Madrid, Bd. 1, 1896, Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [145]) Rawitz (Leitfaden, 1895), [146]) Reden-

BAUGH (Amer. Natur., Bd. 29, 1895), [147]) REIMAR (Fort. Med.. Bd. 12, 1894), [148]) RENÉ (Bull. Soc. Anat. Paris, 69. Jahrg., 1894), [149]) RETTERER (Journ. de l'Anat. Phys., 36. Jahrg., 1900), [150]) RETZIUS (Ref. VIRCH. Jahresber., Bd. 1, 1894), [151]) REVERDIN (Rev. méd. Suisse romande, Décembre 1897), [152]) SAINTON und KATTWINKEL (Deutsch. Arch. klin Med., Bd. 60, 1898), [153]) SALÉN (Hygiea, N. F., Bd. 1), [154]) v. SCARPATETTI (Neurol. Centr., Bd. 16, 1897), [155]) SCHAWLOWSKY (Arbeiten des V. Kongresses des Pirogow'schen Gesellschaft russ. Aerzte, 1894. Bd. 1 [russisch]), [156]) SCHREIBER (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), [157]) SCHULTZE (Münch. med. Woch., 44. Jahrg., 1897), [158]) SHAPER (Journ. New York micr. Soc., Bd. 13, 1897), [159]) SIEMERLING (Neurol. Centr., 18. Jahrg., 1899), [160]) SJÖBRING (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), [161]) SMIRNOW (Arch. Mikr. Anat., Bd. 52, 1898), [162]) STERNBERG (Centr. allgem. Path., Bd. 10, 1899), [163]) STEUER (Mitth. d. Sekt. f. Naturk. d. österr. Tourist.-Klubs, 7. Jahrg., 1895), [164]) derselbe (Mitth. d. Sekt. f. Naturk. d. österr. Tourist. Klubs, 8. Jahrg., 1896), [165]) STRONG (Anat. Anz., Bd. 10, 1895). [166]) STROUD (Amer. Nat., Bd. 31, 1897), [167]) derselbe (ebenda, 1897), [168]) SUMMER (Mem. New York Acad. Sc., Bd. 2, 1900), [169]) TELLYESNICZKY (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), [170]) THILO (Anat. Anz., Bd. 19, 1901), [171]) TRICHERA (Boll. d. Natur., 18. Jahrg., 1901), [172]) WALLER (Nat. Soc., Bd. 10), [173]) WEBER (Neurol. Centr., 17. Jahrg., 1898), [174]) WEHR (Ref. Centr. Chirurgie, 1896), [175]) WEIGERT (Technik, in: Ergebnisse d. Anat. u. Entwickelungsgesch. Herausg. von MERKEL u. BONNET, Bd. 3, 1893, 1894), [176]) derselbe (Abh. Senckenb naturf. Ges. Frankfurt. Bd. XIX, 1895), [177]) WELTNER (Sitz. Ges. Naturf. Freunde' Berlin 1898), [178]) WERMSEL (Ref. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), [179]) WIJHE (Versl. wit. nat. Afd. Wet. Amsterdam, D. 5), [180]) WORTMANN (Bot. Zeit., 52. Jahrg., 1894), [181]) ZACHARIAS (Forschungsberichte aus der Biolog. Station zu Plön, Bd. 3, 1894).

F. Blum, Frankfurt a. M.

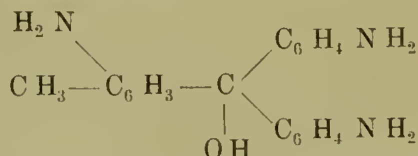
Franceïn, rother Anilinfarbstoff, der in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform und Benzin löslich ist.

Von LÉON als Kern- und Schleimfärbungsmittel empfohlen in folgender Lösung: Franceïn 1 Grm., Borax 2 Grm., Wasser 100, Alkohol 300. Färbung 12 Stunden, Abspülen in Wasser. Nachfärbung im BÖHMER'schem Hämatoxylin.

Frangulin siehe Glykoside.

Fruchtzucker siehe Lävulose.

Fuchsin, Syn. Rubin, Magenta, Solferino, Roseïn, Erythrobenzin (Berlin, Elberfeld). Gemische von salzsaurem oder essigsaurem Rosanilin und Pararosanilin. Die Rosanilinbase:



stellt rothe, in Wasser schwer, in Alkohol leicht lösliche Krystallblättchen dar. Ihre Salze sind intensiver roth gefärbt und in Wasser etwas leichter löslich. Am leichtesten löslich ist das Acetat, schwerer das Sulfat, Chlorhydrat, Pikrat und Bromhydrat. Im grossen wird das Fuchsin durch Oxydation des sogenannten Rothöls dargestellt, eines Gemisches von Anilin, Orthotoluidin und Paratoluidin mittels Arsensäure oder salpetersaurem Quecksilberoxydul oder Nitrobenzol in Gegenwart eines Metallchlorids. Durch das letztere Verfahren wird ein giftfreies Produkt hergestellt, während die beiden ersten Verfahren arsen- resp. quecksilberhaltige Farbstoffe liefern.

Das Fuchsin stellt kleinere oder grössere, metallisch glänzende Krystalle dar, die sich in Wasser von 15° ungefähr zu 0,3% lösen; in Alkohol sind sie leichter löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure gelb, mit Natronlauge entfärbt sie sich fast gänzlich unter Abscheidung der Rosanilinbase. In koncentrirter Schwefelsäure ist der Farbstoff mit gelber Farbe löslich.

Wird die Rosanilinbase bei höherer Temperatur mit rauchender Schwefelsäure behandelt, so bildet sich eine Sulfosäure, deren Natronsalz das Säurefuchsin (siehe dort) ist.

In der technischen Färberei wird das Fuchsin ziemlich viel verwandt und meist mit Hilfe von Brechweinstein und Gerbsäure auf der Faser fixirt. Die Fuchsinfärbungen sind weder sehr licht-, noch seifen-, noch walkecht.

Trotzdem das Fuchsin wohl einer der am frühesten in die Mikrotechnik eingeführten Farbstoffe gewesen ist, hat es sich doch keine allzu grosse Verbreitung verschafft. Das Fuchsin ist ein recht gutes Kernfärbungsmittel und leistet auch zur Bakterienfärbung gute Dienste. Als Farblösungen benutzt man entweder koncentrirte wässerige Lösung oder 1%ige Lösung in 5%igem Karbolwasser mit 10% Alkohol (Ziehl) oder koncentrirte Lösung in reinem 2%igen Karbolwasser oder 1.5%ige Lösung in 1.5%iger alkoholischer (40—50%) Borsäure (Lübimoff).

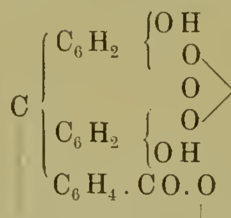
Zum Differenziren dient meistens Alkohol oder auch Alkohol mit Zusatz von 10% Anilin (Nissl) oder auch Pikrinsäure (Ziehl). Zu Doppelfärbungen eignen sich Methylenblau und Jodgrün. So färbt Baumgarten Chromsäurematerial 24 Stunden lang in einer verdünnten alkoholischen Lösung (8—10 Tropfen koncentrirte alkoholische Fuchsinlösung auf 10 Ccm. Wasser), Abspülen in absolutem Alkohol, Färbung 4—5 Minuten in koncentrirtem wässerigen Methylenblau, Differenziren in absolutem Alkohol, Nelkenöl, Balsam. Ruhende Kerne blau, Mitosen roth. Russel färbt zur Darstellung der fuchsinophilen Granulationen Müllermaterial 10—30 Minuten mit koncentrirtem Fuchsin in 2%igem Karbolwasser, 3—5 Minuten Auswaschen in Wasser, 1/2 Minute in absoluten Alkohol und Nachfärben 5 Minuten lang in 1%igem Jodgrün in 2%igem Karbolwasser, absoluter Alkohol, Xylol, Balsam. Kerne grün, Zelleinschlüsse roth. Klien färbt zu demselben Zweck zunächst in Delafield'schem Hämatoxylin, differenzirt in Salzsäurealkohol und spült in Wasser ab. Dann folgt Färbung in erwärmtem 1%igen Karbolfuchsin und abwechselndes Differenziren in koncentrirtem alkoholischem Fluorescin und absolutem Alkohol, Xylol, Balsam. Auch die Altmann'schen Granulamethoden geben gute Resultate für die Darstellung dieser fuchsinophilen Körperchen. Ueber die Nissl'sche Färbung vergl. Nervenzellen.

Litteratur: Russel (Brit. med. Journ., 1890), Lübimoff (Centr. Bakt., Bd. 9, 1888), Baumgarten (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Klien (Beitr. path. Anat., Bd. 11, 1892).

Fuchsinophile Granulationen siehe Fuchsin.

G.

Galleïn, Pyroninfarbstoff, Oxydationsprodukt des Pyrogallophthaleïn



(Berlin, Elberfeld). Violette Paste oder Pulver (Galleïn-W.-Pulver), in kaltem Wasser, Aether, Benzol und Chloroform fast unlöslich, in Alkohol mit dunkelrother Farbe löslich. Die Lösung färbt sich mit Natronlauge blau, mit Salzsäure braun. In Schwefelsäure ist der Farbstoff mit rother Farbe löslich. Chromsalze und Eisensalze liefern mit Galleïn einen schön rothviolett gefärbten Lack, Alaun einen mehr purpurrothen.

Dieser ausserordentlich nützliche Farbstoff ist bis jetzt sowohl in der technischen als auch mikroskopischen Färberei nur sehr wenig verwendet worden, obwohl er unseres Erachtens sehr schätzenswerhe Eigenschaften besitzt. Man kann ihn sowohl mit Eisenchlorid als auch mit Bichromat oder besser Chromalaun nach Art des Hämatoxylins verwenden. Für gewöhnliche Kernfärbungen genügt es, wenn man einen Ueberschuss des Farbstoffs in einer 2—3%igen Alaunlösung einige Minuten kocht und nach dem Erkalten filtrirt. Man erhält so eine Färbeflüssigkeit, die in wenigen Minuten sehr distinkte Kernbilder liefert.

Aronson färbt Schnitte von Material, das in Erlitzki'scher Flüssigkeit fixirt war, 12—24 Stunden in einem Bade, das besteht aus 3—4 Ccm. Galleïnpaste, 20 Ccm Alkohol, 100 Ccm. Wasser und 3 Tropfen koncentrirter Sodalösung. Die Differenzirung erfolgt nach Weigert oder Pal oder in sehr verdünnter Chlorkalklösung. Nachher kommen die Schnitte in Lithiumkarbonat, bis sie roth werden, und können eventuell in Methylenblau nachgefärbt werden.

Pfeifer und Wellheim behandeln Süsswasseralgen zuerst mit eisenchloridhaltigem Alkohol und färben sie dann in einer koncentrirten alkoholischen (90%) Galleïnlösung, die zehnfach mit 90%igem Alkohol verdünnt ist. Ueberfärbte Präparate werden mit Salzsäurealkohol differenzirt.

Gallenblase. Zur mikroskopischen Untersuchung der Gallenblase empfiehlt es sich, kleine Stückchen der Wand mit Igelstacheln auf Wachsplatten aufzustecken und in Sublimat, Zenker oder Formol (Hendrickson) zu fixiren. Man kann auch zunächst den Ductus choledochus anschneiden, die Galle auslaufen lassen und dann die Fixationslösung injiciren und vermeidet so die

störende Muskelkontraktion. Zur Färbung der Schnitte empfiehlt sich neben anderen hauptsächlich die VAN GIESON- und die CALLEJA'sche Methode (vergl. Hämatoxylin und Indigkarmin), welche beide die Muskulatur sehr schön zur Anschauung bringen.

Die Nerven der Gallenblase sind untersucht worden von RANVIER und DOGIEL. Ersterer schneidet die Blase heraus und füllt sie nach Entleerung der Galle vom Ductus choledochus aus mit frisch ausgepresstem Citronensaft. Nach 5—10 Minuten kann sie aufgeschnitten und vergoldet werden. DOGIEL behandelt Stücke der Gallenblasenwand auf dem Objektträger mit Methylenblau.

Litteratur: HENDRICKSON (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), RANVIER (Journ. de Microgr., Bd. 10, 1886), DOGIEL (Arch. Anat., 1899).

Gallenkapillaren siehe Leber.

Gallerte der Eier, Entfernung derselben siehe Eau de Javelle und Embryologische Methoden.

Gallertgewebe. Zur Untersuchung des Gallertgewebes eignet sich der Flossensaum von Amphibienlarven, vor allem sind Pelobateslarven zu empfehlen. Man macerirt die Thiere mehrere Tage lang in wenig zwei- bis dreifach verdünnter MÜLLER'scher Flüssigkeit, pinselt dann das Epithel ab und färbt in Alaunkarmin oder Hämatoxylin. Einschluss in Glycerin oder Balsam. Sehr zu empfehlen ist auch die Maceration in Karmalaun.

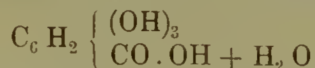
Ein anderes vorzügliches Objekt zum Studium des Schleimgewebes bildet das an vielen Stellen die Schädelknorpel umgebende weiche Gewebe der Rochen, Haie und Cephalopoden. Hier erzielt man die schönsten Präparate durch Einstichinjektionen mit 0,1—0,5%iger Osmiumsäure und Anfertigung von Rasiermesserschnitten.

Das Schleimgewebe der WHARTON'schen Sulze des Nabelstrangs zeigen am schönsten menschliche Embryonen des 3.—5. Monats. Fixation entweder wie vorher durch Einstich oder mittels ZENKER'scher oder CARNOY'scher Flüssigkeit. Paraffineinbettung und Färbung in Hämatoxylin-Rubin.

Ein ausserordentlich schönes Gallertgewebe findet man auch in der Schmelzpulpa von menschlichen Zahnanlagen der 2.—4. Embryonalmonats.

Gallertscheiden siehe Schleime, pflanzliche.

Gallussäure, Acidum gallicum, Trioxybenzoesäure:



$$C_6H_2 \begin{cases} (OH)_3 \\ CO.OH + H_2O \end{cases}$$

findet sich in grosser Verbreitung neben der Gerbsäure im Pflanzenreich, so in den Galläpfeln, dem Sumach (Zweige von Rhus coriaria), den Wurzeln von Helleborus, Colchicum etc. Sie wird meistens aus Galläpfeln dargestellt und bildet farblose Krystallnadeln, die sich zu 0,7% in kaltem und zu 30% in kochendem Wasser, zu 20% in Alkohol und zu 2·5% in Aether lösen. Sie schmilzt bei 200° und zerfällt bei höherer Temperatur in Kohlensäure und Pyrogallol. Die wässerige Lösung reagirt schwach sauer und wird beim Stehen an der Luft allmählich unter Braunfärbung zersetzt. Sie fällt Eiweisskörper nicht und scheidet aus Gold- und Silbersalzlösungen die Metalle ab. Mit Eisenoxydsalzen giebt sie einen blauen Niederschlag, nicht mit Eisenoxydulsalzen.

In der Mikrotechnik wird die Gallussäure an Stelle von Gerbsäure angewandt. (Näheres siehe Tannin, siehe auch Gerbstoffe in Pflanzen.)

Ganglienzellen siehe Nervensystem.

Gaskammern siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Gastropoden siehe Mollusken.

Gaultheriaöl, das Oel des Krautes von Gaultheria procumbens, fast rein aus Salicylsäuremethylester, $C_6H_4—OH—CO_2—CH_3$, bestehend. Angenehm gewürzartig riechende Flüssigkeit von aromatischem Geschmack. Spec. Gew. 1,81 bei 16°. Leicht mit Alkohol, ebenso mit Benzol, Aether, Toluol, Xylol, Chloroform, Petroläther mischbar. Ebenso verhält sich das Methylsalicylat.

Sowohl das in der Natur vorkommende Oel, wie das Methylsalicylat sind in der Mikrotechnik als Medium zur Durchtränkung verschiedener Objekte benutzt worden, und zwar das erstere von Stieda, dann von Unna, von diesem besonders zur Verdünnung des Kanadabalsams. Guéguen bringt die fixirten und entwässerten Präparate zuerst in ein Gemisch von Methylsalicylat und absolutem Alkohol zu gleichen Theilen, dann in Gemische von steigendem Gehalt an Salicylat, endlich in reines Salicylat. Dann wird in der Wärme Paraffin in allmählich steigenden Dosen zugesetzt, bis die Objekte in reines Paraffin übergeführt werden können.

Litteratur: Guéguen (C. R. Soc. Biol., Bd. 5, 1898), Stieda (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), Unna (Mon. prakt Derm., 1885). *Mosse*, Berlin.

Gefässe siehe Blutgefässe.

Gefässbündel der Pflanzen. Ueber die Färbung der einzelnen Elemente der Gefässbündel vergleiche Zellmembranen, pflanzliche, zumal unter *b)* Verholzung, Doppelfärbung.

Zum Studium des Verlaufes der Gefässbündel im Stengel müssen, etwa mit einem Handmikrotom, sukcessive Querschnitte angefertigt werden. Sie werden auf Pauspapier gezeichnet und lässt sich dann durch Uebereinanderlegen der einzelnen Bilder eine körperliche Vorstellung gewinnen. Der Gefässbündelverlauf der Blätter kann bei günstigen Objekten (z. B. Impatiens parviflora) an aufgehelltem frischem oder Alkoholmaterial (siehe Aufhellung pflanzlicher Gewebe, Methode 2) gut studirt werden (Strasburger). Am lebenden Objekt treten die Gefässbündel oft scharf hervor, wenn man schwache Eosinlösung aufsaugen lässt. (Weisse Blumenblätter, durchsichtige Stengel von Impatiens parviflora.) Ebenso lässt man auch in Blätter koncentrirte wässerige Fuchsinlösung aufsaugen, härtet in Alkohol, extrahirt gleichzeitig das Chlorophyll und überträgt durch Nelkenöl in Kanadabalsam, alle trachealen Elemente heben sich dann schön roth ab (Zimmermann).

Litteratur: Strasburger (Gr. b. Pr., 3. Aufl., pag. 275), Zimmermann (Bot. Mikrotech., pag. 146). *Magnus*, Berlin.

Gefriermethoden. Einleitung. Wenn die Medicin, seit sie auf wissenschaftlichen Grundlagen ruht, den Traum einer Panacee ein für allemal aufgegeben hat, so hat sie dies in erster Linie der Arbeit der Naturforscher im weitesten Sinne des Wortes zu verdanken. Alle, die in die strenge Schule der Naturforschung gegangen sind, und nicht zuletzt die Anatomen, haben sich längst gewöhnt, bei der Wahl der anzuwendenden Methoden individualisirend zuwerke zu gehen, und bei der fast erdrückenden Fülle von bewährten oder wenigstens gepriesenen Vorschriften, die den Inhalt der modernen mikroskopischen Technik bilden, ist dies heute mehr geboten denn je. Gerade daraus, dass wir über eine ganze Reihe von Härtungs- und Fixirungsmitteln zu verfügen haben, geht hervor, dass wir bei der Untersuchung des grossen Kreises thierischer Gebilde oder, wenn wir uns auf den Menschen beschränken, bei der Durchforschung des an

sich schon recht umfangreichen Gebietes der normalen und pathologischen Gewebelehre den mannigfaltigsten Indikationen zu genügen haben werden. Dazu kommen noch, wie besonders von HELLER[15]) hervorgehoben wurde, die Anforderungen, die der Unterricht an den akademischen Lehrer und, wie wir hinzufügen können, das praktische Bedürfniss an den obducirenden Anatomen stellen.

Gesetzt, es käme bei unseren mikroskopischen Untersuchungen nur darauf an, lückenlose Reihen möglichst dünner, vorher durchgefärbter Schnitte zu erhalten, so könnte der Anfänger in der histologischen Technik sich füglich an der Einübung der Paraffinmethode genügen lassen. Nun muss aber das einzubettende Material, wenn man es nicht nach ALTMANN[18]) bei sehr niederer Temperatur ausfrieren lassen will, erst genügende Zeit entweder von vornherein in Alkohol absolutus oder in Alkohol von allmählich bis zur absoluten Stufe steigender Koncentration gelegen haben, es muss ferner das Chloroform-, Terpentin- oder Xylolbad passirt haben, ehe man nur daran denken darf, es in die Einbettungsmasse zu versenken. Dass durch diese Vorbehandlung an dem zu untersuchenden Material manche chemische und physikalische Veränderungen herbeigeführt werden, ist zweifellos; dazu kommen noch die Alterationen, die es eventuell schon vorher durch die vorausgegangene Einwirkung von Sublimat (ich erinnere an die unter Umständen durch dieses Reagens bewirkten Niederschläge in Form von Granulis), chromsaure Salze (ungenügende Fixirung der Kern- und Zellstrukturen, braune Färbung gewisser zelliger Elemente der Markzone der Nebenniere, HENLE), Formol (Vakuolenbildung in gewissen Drüsenzellen) u. s. w. erlitten hat. Eine Zelle fixiren heisst eben, wie ich das an einer anderen Stelle[29]) des näheren ausgeführt habe, bis auf weiteres (d. h. bis wir nicht idealere Fixirungsmittel kennen gelernt haben) sie abtödten und gleichzeitig in ihrer Struktur und Architektur mehr oder weniger verändern. Aus diesen Veränderungen können wir aber unter Umständen werthvolle Schlüsse ziehen.

Im günstigsten Fall ist also erst nach Ablauf einer Reihe von Tagen daran zu denken, wenn man nicht mit einem sehr unvollkommenen Ergebniss sich zufrieden geben will, die Schnitte aus Paraffin- oder Celloidinmaterial unter dem Deckglas geborgen zu sehen, und damit nun wirklich in den Besitz der werthvollen Aufschlüsse zu gelangen, die diese Methoden in Aussicht stellen.

Wir verfügen nun über eine Methode, welche es erlaubt, durch die meisten frischen Organe oder Gewebe binnen wenigen Minuten Schnitte zu legen, die bei nur einiger Uebung dünn genug ausfallen, um mit einer Oelimmersion durchmustert zu werden. Kann man sich etwas mehr Zeit gönnen (15—70 Minuten), so ist man sogar in der Lage, gefärbte Schnitte in Kanadabalsam aufgestellt vorlegen zu können. Wer möchte leugnen, dass dies unter manchen Umständen sehr erwünscht sein kann? Freilich gehört dazu ein kleiner Apparat, der aber so einfach ist, dass er fast überall improvisirt werden kann. Er besteht aus einer etwa 5 Cm. langen und $2^1/_2$ Cm. breiten, vernickelten, 0,5—0,7 Mm. dicken Metallplatte, deren obere Fläche im allgemeinen plan, zugleich aber etwas rauh oder gerieft ist, während von der unteren Fläche in Abständen von 2 Mm. mehrere dünne Längsleisten von 1—2 Mm. Höhe abgehen, welche die Oberfläche nicht unerheblich vergrössern. Diese Platte wird durch eine Schraube etwa handhoch über einer Tischplatte schwebend befestigt, derart, dass sie über deren Rand etwas vorsteht. Sie dient zur Aufnahme des zu schneidenden Materials. Hierzu kommt noch ein Aethersprayapparat, dessen Glasgefäss etwa 150—175 Ccm. Flüssigkeit fasst, und ein für histologische Zwecke dienliches Rasirmesser. Durch Zerstäuben von etwa 40—50 Ccm. Aether gegen die mit Vorsprüngen ver-

sehene Unterfläche der Platte gelingt es, bei gewöhnlicher Zimmertemperatur binnen wenigen Minuten (1—2 Minuten) eine Kälte zu erzeugen, die hinreicht, das Material 1—2 Mm. hoch gefrieren zu machen, so zwar, dass sich mit der gleichfalls gekühlten Klinge die feinsten Schnitte ihm entnehmen lassen. Eine wesentliche Bedingung muss jedoch erfüllt sein, der Aether muss von guter Qualität (0,720 spec. Gew.) sein. Diesen einfachen Apparat möchte ich jedem empfehlen, der sich ein Urtheil über die Leistungen der Gefriertechnik bilden will. Er wird, glaube ich, damit rascher zum Ziele kommen, als wenn er sofort sich eines der grösseren Mikrotome bedienen würde.

Der Apparat, den ich eben schilderte, stellt nur die wesentlichen Stücke des Roy'schen Gefriermikrotoms dar, das, in England konstruirt, etwa um das Jahr 1880 nach Deutschland kam. Um diese Zeit sah ich es wenigstens zuerst im pathologischen Institut zu Leipzig in Thätigkeit. An dem vollständigen Instrument wurde ein gewöhnliches, plankonkaves Rasirmesser in eine Art Zange eingespannt, die um eine vertikale Axe sich drehte. Das Messer, mit der rechten Hand in Bewegung gesetzt, mähte gleichsam in horizontaler Richtung einen Schnitt ab, während eine mit der linken Hand geführte Mikrometerschraube die Objektplatte um eine beliebige Höhe emporhob. Das Instrument war mit einem Fläschchen ausgestattet, das einen Theil des zerstäubten Aethers wieder auffing. Ich hielt mich zuerst genau an das ursprüngliche Modell und die vorgeschriebene Technik, kam aber bald davon ab, namentlich deshalb, weil mir die Messerführung unbequem war und eine grössere, zusammenhängende Reihe von Schnitten, die ich zunächst im Auge hatte, sich, wenn man nicht noch den Fuss in Thätigkeit setzen wollte, wie das Rutherford (1885) wirklich that, nur unter Zuhilfenahme eines Gehilfen erzielen liess, der kontinuirlich den Spray handhabte, sonst war das Material nach wenigen Schnitten wieder aufgethaut und bei wiederholtem Aufthauen lief man Gefahr, mehr oder weniger Material bei erneutem Schneiden zu verlieren. Andererseits erschien mir auch bald dieses wiederholte Frierenlassen und Aufthauen des Materials bedenklich, und um nicht die Struktur zu schädigen, verzichtete ich auf die Herstellung von Schnittreihen* ganz und beseitigte dann auch die nunmehr nutzlos gewordene Messerführung, da es mir damals nicht auf rasche Anfertigung einer grösseren Anzahl von Uebersichtspräparaten ankam, sondern auf feinere Untersuchungen. Der Apparat wurde dadurch viel einfacher, und was ich auf der einen Seite an Gleichmässigkeit und Sicherheit der Messerführung einbüsste, das gewann ich wieder dadurch, dass die Schnittrichtung eine vollkommen freie wurde.

Das Roy'sche Aethermikrotom ist übrigens weder das erste Modell eines Gefriermikrotoms, bei dem der Aetherspray verwandt wurde, noch das erste Gefriermikrotom überhaupt. Vorher und nachher wurden eine ganze Reihe solcher Instrumente konstruirt, von denen manche wohl nur noch historisches Interesse beanspruchen können. Sie sollen in der folgenden historischen Skizze, die von den ersten Versuchen der Erhärtung der Gewebe durch starke Abkühlung für mikroskopische Zwecke auszugehen haben wird, zum Theil wenigstens vorgeführt werden.

Einer der ersten, wenn nicht der erste, der Gewebe behufs histologischer Untersuchung gefrieren liess, war Cohnheim.[1]) Er exponirte in einer Kältemischung, die nicht näher bezeichnet wird, frische Muskeln vom Frosch oder Säugethier einer Temperatur von etwa — 6—8°. Die an solchem gefrorenen Material gewonnenen Querschnitte zeigten ihm eine viel grössere

* Gegen Schnittreihen aus konservirtem und dann zum Gefrieren gebrachten Material habe ich natürlich nichts einzuwenden.

Gleichmässigkeit und Ausdehnung als die mit dem Doppelmesser am frischen Gewebe erzielten. Die bessere Methode führte auch zu einer besseren Kenntniss des thatsächlichen Verhaltens, nämlich zum Nachweis der nach ihm benannten Felder, wenn dem Entdecker derselben auch ihre richtige Deutung nicht gelang, denn er sah die matten Felder des Schnitts als die Querschnittsbilder der Disdiaklasten BRÜCKE's oder der Sarcous elements von BOWMAN an. Die erhaltenen Querschnitte lässt er in einer indifferenten Flüssigkeit (verdünntem Blutserum, Kochsalzlösung von 0,5%) unter Vermeidung jedes Druckes, also am zweckmässigsten nach KÜHNE's Vorschlag in einer niedrigen, feuchten Kammer an der unteren Fläche des Deckglases ausbreiten. Es folgte die Arbeit von KÖLLIKER[2]), der zuerst die bemerkenswerthe Beobachtung machte, dass das Querschnittsbild der Muskelfaser, ohne Zusatz untersucht, sich wesentlich anders ausnehme als nach Hinzufügung von ½%iger Kochsalzlösung u. dergl.; er nennt die Gefriermethode, die er besonders bei verschiedenen drüsigen Gebilden, ferner bei Embryonen verschiedener Herkunft »mit Vortheil« angewandt habe, eine »ausgezeichnete und grosser Ausdehnung fähige«. Später äusserten sich BOLL[3]) und RANVIER[9]) über das Verfahren. BOLL behandelte die Gland. submaxillaris des Kaninchens, nachdem sie auf dem Wege des Einstichs mit Höllensteinlösung injicirt war, in folgender Weise: Er legte die Drüse auf ein Glastischchen, das er sich selbst aus einer Glasröhre herzustellen pflegte, und dessen 2—3 Cm. langer Fuss in eine Kältemischung vergraben wurde, so dass »die Platte nebst dem zu gefrierenden Gewebe möglichst von allen Seiten von den Eisstücken« umgeben war. Den die Wärme schlecht leitenden Glasfuss fasste die linke Hand, während die rechte »mit abgekühltem Rasirmesser eine fast unbegrenzte Anzahl feinster Schnitte abtragen« konnte. RANVIER bediente sich eines etwas komplicirteren Gefrierapparates, des modificirten PENANT'schen, der aber noch kein Mikrotom war, man schnitt ohne Messerführung aus freier Hand mit abgekühlter Klinge.

Die Aufgabe, ein Gefriermikrotom zu konstruiren, hatte mittlerweile RUTHERFORD[4]) gelöst; er hatte zu diesem Zwecke ein nach dem Princip der Cylindermikrotome gebautes Instrument hergestellt, bei dem das von einer Lösung von Gummischleim umschlossene frische Material durch eine Kältemischung zum Gefrieren gebracht wurde. Statt der Kältemischung und statt des von VIGNAL vorgeschlagenen Zerstäubens von zuvor verflüssigtem Ammoniak benutzten dann COPPINGER und HUGHES (1876) den Aetherspray, der erst in der jüngsten Zeit in der Kohlensäure (JOHNE) einen Konkurrenten* erhielt. Von den älteren Modellen wäre noch zu nennen das von SMITH (1878), gleichfalls ein Cylindermikrotom, bei dem nicht nur das Material, sondern auch das Messer durch den Aetherspray abgekühlt wurde. LEWIS versah (1879) das STIRLING'sche Mikrotom (Cylindermikrotom) mit einer Gefrierkammer. Eine ganze Reihe anderweitiger Modelle folgten ihm, wobei bald das eine, bald das andere System der Objektbewegung zur Ausführung gelangte. Wir betrachten zuerst kurz die Instrumente mit vertikaler Hebung der Objektklammer oder des Objekttisches (Cylindermikrotome und System Schanze). Dabei sind wieder zweierlei Formen auseinander zu halten, selbstständige Gefriermikrotome und Vorrichtungen für Gefrierplatten oder -kästchen als Nebenapparate für Paraffin- und Celloidinmikrotome. PLENGE tritt mit Recht für eine vollkommene Trennung des Gefriermikrotoms von den Vorrichtungen zum Schneiden eingebetteter Objekte in Paraffin oder Celloidin ein. Auf jeden Fall verlangt die Vorrichtung nach dem Gebrauch eine sorgfältige Reinigung und ausgiebiges Oelen, einerlei, ob sie selbständig oder beigegeben ist.

* Das Aethylchlorid kommt wohl zum Theil als solcher noch nicht in Betracht.

Dem zuerst genannten Princip der vertikalen Objekthebung folgt ebenso, wie das ROY'sche auch das CATHCART'sche, von KITT[17]) benützte und von LÜPKE[23]) verbesserte Gefriermikrotom. Dieser Apparat ist mit einem hobelähnlichen Messer ausgestattet, das auf zwei das Objekttischchen flankirenden Glasleisten verschoben wird. Das mit freier Hand geführte Messer kann unter einem beliebig zu variirenden Winkel auf das Objekt wirken.* Das von SCHANZE (Pathol. Institut, Leipzig) konstruirte, nunmehr von G. MIEHE (Hildesheim) gelieferte Instrument, das als einfaches, sowie als Gefriermikrotom zu verwenden ist, hat u. A. ORTH erprobt befunden.

Auch die nach dem System RIVET-LEYSER gebauten Mikrotome, bei denen das Objekt längs einer schiefen Ebene verschoben wird, wurden mit Gefrierkästen und Gummigebläse ausgestattet. Hier wie dort handelt es sich eben um hohle, durchbrochene, einem schlechten Wärmeleiter (Filz) aufruhende Metallkammern, gegen deren obere, meist etwas rauhe oder geriefte Platte der Aetherspray wirkt. Solche Vorrichtungen werden zur Zeit in Deutschland wohl allen Mikrotomen beigegeben (BECKER, Göttingen, R. JUNG, Heidelberg). Der zuletzt genannte Mechaniker hat aber auch ein gesondertes Gefriermikrotom (Katalog Nr. 119, sogenanntes Studentenmikrotom) hergestellt, einen kompendiösen Apparat, der an jeder Tischecke angebracht werden kann. Ursprünglich für Aetherspray berechnet, ist er nunmehr auch für die Verwendung von flüssiger Kohlensäure eingerichtet. Auch die automatischen Mikrotome nach MINOT werden von E. ZIMMERMANN in Leipzig mit einer Gefriervorrichtung ausgerüstet, welche — ähnlich wie bei anderen Modellen — nach dem Wortlaut des von ihm versandten Kataloges (1900, pag. 17) »aus einer hohlen, mit seitlichen Oeffnungen versehenen Metallkapsel besteht, die zur besseren Isolation auf einer Filzplatte montirt ist. Gegen die freie Seite der Metallkapsel, welche plan und gerieft ist und zur Aufnahme der frischen Objekte dient, wirkt der zerstäubte Aether. Die Ausstrahlöffnung für den Aether ist durch eine Silberspitze vor Oxydation möglichst geschützt, ebenso ist zum Schutz vor Verunreinigungen das Ende des Saugröhrchens mit einem kleinen Filter versehen. Der Aether wird in einer flachen Flasche mit Metallverschraubung vor Verdunstung bewahrt und soll ein specifisches Gewicht von 0,720 haben. Die zu schneidenden Objekte können bis 4 Mm. stark sein.«

Der von NOLL[39]) neuerdings konstruirte Gefrierapparat beruht auf dem Princip, »durch Verdunsten von Aether im Vakuum die zum Durchfrieren der Objekte erforderliche Kälte zu erzeugen«.

Vor Kurzem hat JOHNE[33]) ein schon oben genanntes, ursprünglich für Aether berechnetes Modell (das von CATHCART-LÜPKE) für Verwendung von flüssiger Kohlensäure eingerichtet. Das Einströmungsrohr ist im Innern der zur Aufnahme der Kohlensäure bestimmten Gefrierkammer rechtwinkelig nach oben gebogen, so dass die durch den Gummischlauch** einströmende, gasförmig gewordene Kohlensäure gegen die Gefrier-, beziehungsweise Objektplatte getrieben wird. Durch ein der Einpflanzungsstelle des zuführenden Rohres gegenüberliegendes Ausströmungsrohr tritt die Kohlensäure als stark zischender Nebelstrahl mit grosser Gewalt nach aussen. Die Abkühlung der Objektplatte tritt sofort ein und ist sehr beträchtlich. Stücke von 8—10 Mm. Dicke und 2 Cm. Länge und Breite sind nach 3—5 Sekunden langer Einwirkung der Kohlensäure hinreichend gefroren. Selbst in den heissesten Sommermonaten, wo der Aetherspray manchmal versage, soll man bei Anwendung dieses Gefriermittels noch zum Ziele kommen. Celloidinpräparate

* Ein solches CATHCART-Mikrotom, das gleich starke Schnitte bis unter 0,012 Mm. herab lieferte, fertigte im Jahre 1893 mit den von LÜPKE angegebenen Verbesserungen Mechaniker Erbe (Tübingen).

** LEITZ (Berlin) bedient sich statt dessen eines Messingrohres.

aus Alkohol sind vorher in Wasser abzuspülen. Die Verwendung der unter einem Druck von 60 Atmosphären in einem eisernen Cylinder flüssig gehaltenen Kohlensäure ist nach JOHNE absolut ungefährlich, nur müsse man den Cylinder vor Erwärmung durch direkte Sonnenstrahlen oder durch Ausstrahlung eines daneben stehenden, stark geheizten Ofens schützen. Doch wird man, wie mir scheint, auch dem Sicherheitsventil seine volle Aufmerksamkeit zuwenden müssen.

Aufsetzen des Materials auf die Objektplatte. Saftreichere Gewebe und Organe (Leber. Niere, namentlich die der niederen Wirbelthiere, Speicheldrüsen u. dgl.) haften nach dem Gefrieren der metallenen Unterlage fest an. Stückchen von schmaler Basis kann man dadurch stützen, dass man mehrere von ihnen an einander lehnt. Saftlosere Objekte dagegen lösen sich, namentlich dann, wenn man, um eine ebene Schnittfläche zu schaffen, mit einem ersten, kräftigen Messerzug die obere Kuppe entfernen will, manchmal ab. Dann reicht es vollkommen aus, zwischen das aufzusetzende Objekt und die Oberfläche der Metallplatte etwas Blut gleicher Herkunft oder statt dessen einen Tropfen einer dickflüssigen Lösung von Gummi arabicum einzuschalten. MEISSNER [30]) empfiehlt, auf die gut befeuchtete Metallplatte ein Stück sogenannten Joseph-Papiers zu legen, um das Abspringen des gefrorenen Blockes zu verhindern.

Ich untersuche in der Regel oder wenigstens zunächst die mit trockener Klinge hergestellten Schnitte wie KÖLLIKER und BOLL ohne Zusatzflüssigkeit. Auch wenn die Schnitte, wie das nach dem Aufthauen die Regel ist, anfangs etwas zusammengeschoben erscheinen, gelingt es doch meistens ohne Schwierigkeit, sie direkt von der Klinge mit Hilfe der Nadel auf den trockenen Objektträger zu bringen, sie auszubreiten oder einigermassen auseinander zu ziehen und mit dem bereit gehaltenen Deckglas zu bedecken. Ein Wachsrand schützt sie vor Vertrocknung und sichert zugleich das Deckglas in seiner Lage bei Anwendung einer Oelimmersion. Auch das beste Zupfpräparat wird gegen Bilder, wie man sie auf diese Weise erhält, zurückstehen müssen, und ein Schnitt mit dem Doppelmesser nicht minder. Bei Beurtheilung derselben ist — das halte ich für wichtig — die Einwirkung jeder Zusatzflüssigkeit, mag sie nun »indifferent« heissen oder nicht, auszuschliessen, nur die niedere Temperatur, der, wenn irgend möglich, das Gewebsstück nur einmal ausgesetzt wird, kommt als fremdes, alterirendes Moment in Frage. An dieser Stelle möchte ich der von ROSEMANN [40]) festgestellten Gefrierpunktsbestimmungen gedenken. Der Gefrierpunkt des menschlichen Blutes beträgt etwa — 0,57°. Für das Kaninchenblut ergaben sich die Werthe — 0 56 bis 0,67°. Dagegen schwankte für die Leber der Gefrierpunkt zwischen — 0,69 bis — 0,73°, für die Muskeln zwischen — 0,82 bis — 0,89°. Die Gefrierpunkte dieser Organe liegen also durchweg unter dem des Blutes, besonders bei den Muskeln, »in denen wir ja besonders lebhafte Zersetzungsvorgänge anzunehmen haben« (l. c., pag. 11).

Zum Schluss dieses Abschnitts haben wir uns noch etwas mit dem Messer zu beschäftigen. Ich pflege, wie schon bemerkt, aus freier Hand zu schneiden, und zwar mit unbenetzter Klinge. BÖHM und OPPEL [22]) empfehlen beim Schneiden gefrorener Objekte das Messer ausgiebig mit 1—3%iger Chromsäure oder — was mir mit Rücksicht auf die Klinge weniger bedenklich vorkommt — mit physiologischer Kochsalzlösung zu benetzen, damit der Schnitt sofort schwimme und sich nicht aufrolle. Bei höherer Temperatur der Umgebung wird das Messer, in Watte und wasserdichtes Papier eingehüllt, zweckmässig vorher auf Eis gelegt oder die Klinge direkt mit Aether besprüht, in beiden Fällen ist sie vor dem Gebrauch sorgfältig zu trocknen.

Nach BÖHM und DAVIDOFF (Lehrb. der Histologie des Menschen, 2. Aufl.) lasse man den Schnitt in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung,

Wasser etc. aufthauen und sich ausbreiten. Selbstverständlich kann die Abkühlung des Messers durch die oben angegebenen Mittel nur von vorübergehender Dauer sein. Eine kontinuirliche Abkühlung erzielt man durch eine an das Messer anzuschraubende Kühlvorrichtung, wie E. Zimmermann eine solche herstellt (Temperirvorrichtung, Katalog pag. 16), oder durch Benützung eines Kühlmessers (Stoss), das von Eiswasser durchströmt wird. Von dem zugehörigen Eisbehälter geht zugleich auch ein kalter Luftstrom aus, der eigentlich zum Abkühlen des Paraffinblocks bestimmt ist, aber, wie mir scheint, ebensogut in den Dienst des Gefrierverfahrens gestellt werden kann. Die Verwendung eines auf die eine oder andere Weise gekühlten Messers lohnt sich schon deshalb, weil die Uebertragung ganz oder theilweise gefrorener Schnitte auf den Objektträger rascher und für die Schnitte gefahrloser sich bewerkstelligen lässt als die aufgethauter.

Wir unterrichten uns nun zuerst über die Verwendbarkeit des Gefrierverfahrens bei frischen Objekten. Aus den bisher mitgetheilten technischen Angaben geht schon hervor, dass die Leistung dieses Verfahrens nicht nur derjenigen des Doppelmessers gleichkommt (vergl. Ueber das Doppelmesser u. a. Orth, Nr. 16, pag. 32 ff., Behrens, Kossel und Schiefferdecker, Nr. 21, pag. 113 ff., Böhm und Oppel, Nr. 22, § 6), sondern sie auch noch übertrifft; denn es lassen sich auch noch von den kleinsten Stückchen des Untersuchungsmateriales einige Schnitte ohne Schwierigkeit entnehmen. Selbst knorpelige Theile können unter Umständen vor dem Schneiden dem Gefrieren unterworfen werden, weil es dann gelingt, auch das Perichondrium und die umgebenden Weichtheile überhaupt mit in den Schnitt zu bekommen. Dass solche Schnitte an Gleichmässigkeit, Dünne und manchmal auch an Ausdehnung die mit dem Doppelmesser gemachten übertreffen, das lehren jedem schon die ersten Versuche auf diesem Gebiete.

Es kann in vielen Fällen von Bedeutung sein zu wissen, wie das mit keinem anderen Reagens behandelte und daher chemisch und — nach dem Aufthauen — auch physikalisch nahezu wenigstens unveränderte Gewebe oder Organ sich ausnimmt; dann wird man natürlich auf jeden Zusatz verzichten und die unter Umständen noch halb gefrorenen Schnitte direkt von der Klinge auf den Objektträger bringen. Man kann aber auch, von verschiedenen Gesichtspunkten geleitet, die Schnitte erst noch der Einwirkung irgend einer mehr oder weniger indifferenten oder fixirenden Flüssigkeit aussetzen, z. B. physiologischer Kochsalzlösung, Argent. nitric., Osmiumsäure, Chromsäure, Kaliumbichromat, Formaldehyd, Alkohol u. s. w., sei es, dass man sie von den sehr leicht auftretenden Luftblasen befreien will, was man durch Einlegen in abgekochte Kochsalzlösung, abgekochtes Wasser oder in 50%igen Alkohol (Plenge) erreicht, oder dass die Schnitte resistenter und für die Aufnahme von Farbstoffen vorbereitet werden sollen (Müller'sche Fl., Alkohol etc.). Am besten eignen sich für eine solche vorläufige, vielfach nur der Orientirung dienende Behandlung*, mit der man sich selbstverständlich nur selten begnügen wird, Muskeln, sämmtliche drüsigen Organe (Drüsengranula), Lunge, Fettgewebe oder fetthaltige Gewebe überhaupt, Gewebe mit nicht alkoholbeständigen Pigmenten, Haut. Besonders wichtig für die gerechte Beurtheilung der Methode scheinen mir die Erfahrungen W. Kühne's

* Wenn ein solches Verfahren von Zoologen »vernachlässigt« und selbst »getadelt« wird (Lee und Mayer, Nr. 36, pag. 111), so wird damit von den Herren Kollegen auf biologischem Gebiete uns Anatomen nur aufs Neue dringend, wenn auch vielleicht unbeabsichtigt, ans Herz gelegt, vergleichende Anatomie und selbst die reine Zootomie nach unserer Weise zu betreiben. Bei keiner anderen Untersuchungsmethode tritt z. B — um nur einen Punkt zu nennen — die scharfe Gliederung des Querschnittsbildes der Froschniere in eine gelbkörnige, graukörnige und helle Zone so scharf hervor wie an Gefrierschnitten (Ueber die Bedeutung der gelbkörnigen Zone s. Solger, Nr. 11, pag. 422, vergl. auch A. Ecker's und R. Wiedersheim's Anatomie des Frosches, 2. Aufl.).

am gefrorenen Froschmuskel zu sein. Er fand, wie COHNHEIM[1]) berichtet, dass die Erregbarkeit eines Froschmuskels, welcher der Einwirkung einer Kältemischung ausgesetzt und gefroren war, nach dem Aufthauen ganz wohl erhalten ist, vorausgesetzt, dass die Temperatur nicht zu niedrig, d. h. nicht unter 6—8° C. gesunken war und dass ausserdem die Kälte nur kurze Zeit gewährt hatte, mithin sei der Schluss gerechtfertigt, dass die Struktur der Muskelfasern keine Veränderung erlitten habe. Diese Erfahrungen geben zugleich einen werthvollen Fingerzeig, welche Kautelen bei einer erfolgreichen Verwendung des Gefrierverfahrens innegehalten werden müssen. Dass »das Gefrieren und Wiederaufthauen keineswegs ein gleichgiltiger Vorgang« sei, darauf hat schon ORTH[16]) vor Jahren hingewiesen. Auf Schnittserien, zu deren Herstellung das Präparat lange Zeit in gefrorenem Zustand erhalten oder mehrmals in denselben versetzt werden muss, möge man, wie schon oben bemerkt, lieber verzichten, denn dabei müssen nothwendig schwere mechanische oder chemische Schädigungen der Zellstruktur oder ihrer Einschlüsse gesetzt werden. Man lasse das nicht zu umfangreiche Material (einige Millimeter Seite) nur einmal gefrieren, schneide die obere, noch ungefrorene Partie ab, um eine plane Schnittfläche zu gewinnen und nehme die Schnittpräparate aus der mittleren Zone, die durch Eiskrystalle noch nicht weissgrau, aber doch durch die Kälte schneidbar geworden ist (SOLGER Nr. 12, 24, 25, 28, 29). Bei diesem vorsichtigen Vorgehen beschränkt man auch das Auftreten von Luftblasen in den Schnitten (ORTH Nr. 16). Ueber andere Mittel gegen diesen störenden Uebelstand siehe oben. Dass sich frische Gefrierschnitte direkt mit Pikrokarmin färben und zugleich fixiren lassen, braucht kaum besonders hervorgehoben zu werden.

Ein nicht geringer Vortheil, den besonders pathologische Anatomen und medicinische Praktiker zu schätzen wissen, liegt endlich in der Schnelligkeit, mit der beim Gebrauche eines Gefriermikrotoms noch während der Operation oder der Sektion gefärbte, in Kanadabalsam aufgestellte Schnitte demonstrirt werden können. So ist man, wenn man dem Vorschlage von KELLY und PICK[32]) folgt, in der Lage, ein solches Präparat nach 12 Minuten vorlegen zu können, denn die mit dem Gefriermikrotom angefertigten Schnitte kommen sofort auf 4 Minuten in 4%iges Formol, dann in 80%igen, hierauf in absoluten Alkohol und zuletzt in Karbolxylol. In der Berliner Klinik für Hals- und Nasenkranke wird seit Jahren, wie ALEXANDER berichtet, folgendes Verfahren geübt, das etwas längere Zeit (etwa 68 Minuten) beansprucht: Einlegen der mit dem Mikrotom hergestellten Schnitte in heisses Wasser, Hämatoxylin, absoluten Alkohol, Xylol.

Mindestens ebenso empfehlenswerth als diese Vorschriften, nach denen die Fixirung durch Formol, beziehungsweise durch eine höhere Temperatur vollzogen wird, scheint mir das von KITT[17]) innegehaltene Verfahren, das ebenfalls darauf abzielt, in unmittelbarem Anschluss an eine Sektion oder an die Schlachtung eines Thieres gefärbte Schnitte vorlegen zu können. Er betupft den auf dem Spatel (»Fischer«) liegenden Schnitt, der aus »Wasser«, (besser wohl physiologischer Kochsalzlösung) kommt, in seiner Mitte mit einem Tropfen Alkohol, um ihn vor dem Einrollen zu schützen und härtet ihn dann einige Minuten in Alkohol, worauf dann die Färbung mit Boraxkarmin oder einem anderen Färbemittel vorgenommen werden kann.

Fassen wir das, was wir über die Anwendung der Gefriermethode auf frisches Material den mitgetheilten Thatsachen entnehmen können, zusammen, so gelangen wir zu folgenden Sätzen: *Die Methode liefert beinahe ebenso rasch als das Doppelmesser Schnitte, aber von vollkommenerer Beschaffenheit als dieses, andererseits erhält man weit schneller als bei jedem mit einer Einbettungsmasse arbeitenden*

Verfahren — und zwar bemisst sich der Unterschied nach Tagen oder Wochen — bei Operationen, Sektionen, Schlachtungen von Thieren gefärbte Dauerpräparate und bekommt dadurch Fingerzeige, wo subtilere, zeitraubendere, aber auch im allgemeinen leistungsfähigere Methoden einzusetzen haben. Sie macht uns endlich auf Schnitten mit Zelleinschlüssen bekannt, die in den üblichen Flüssigkeiten schwer oder gar nicht sich fixiren lassen.

Manchen Organen und Geweben gegenüber versagt sie aber. So findet man an Schnitten durch das zum Gefrieren gebrachte kindliche und fötale Rückenmark nach FLECHSIG »in sämmtlichen makroskopisch grau erscheinenden Regionen des Markes das Gewebe auf einzelne Linien« zurückgezogen. Das sind jene feinen oder groben Lücken, Risse oder Spalten, von denen schon im Jahre 1874 KEY und RETZIUS[5]) sprachen, vor denen beide[11]) später nochmals warnten und auf die in allen technischen Lehrbüchern hingewiesen wird.

Gefrierschnitte aus markhaltigen Nervengebieten sind wegen der zahllosen Myelintropfen, in welche die wieder aufthauenden Markscheiden zerfliessen, erst recht unbrauchbar, wie ja schon nach dem allbekannten makroskopischen Verhalten des centralen Nervensystems unter diesen Umständen vorauszusetzen war.

Das eben erwähnte Auftreten solcher Lücken und Risse vermeidet man, wenigstens bei Untersuchung der von mir genannten Organe ganz sicher, wenn man die Organe nur einmal und nicht zu lange gefrieren lässt. Auch ALTMANN hat über diesen Uebelstand »bei irgend eiweissreicheren Organen nicht zu klagen gehabt«. Manchen anderen Uebelständen von geringerer Bedeutung lässt sich gleichfalls abhelfen. So treten in Gefrierschnitten, die man einige Zeit für Unterrichtszwecke frisch aufbewahren will, bald eine grosse Menge von niederen Organismen (Spaltpilze, Schimmelpilze) auf. Dagegen verwendet HELLER[15]) mit Erfolg eine $1^0/_0$ige Chloralhydratlösung, von welcher er eine Quantität der physiologischen Kochsalzlösung zusetzt. Wie man dem Auftreten von Luftblasen begegnet, wurde schon oben erwähnt.

Das Arbeiten mit dem Gefriermikrotom wird endlich auch von der umgebenden Temperatur beeinflusst, und zwar weit mehr als die Handhabung der Paraffinmethode. Daher bemängeln es LEE und MAYER, von denen der eine in Nyon, der andere in Neapel lebt, dass es in warmen Klimaten, namentlich im Sommer nur schwer möglich sei, brauchbare Schnitte mit dieser Methode zu erhalten. Die Verwendung von Kohlensäure als Kältequelle dürfte auch dann zum Ziele führen. Mancher Misserfolg am Aethermikrotom mag, wie ich aus eigener Erfahrung weiss, darauf zurückzuführen sein, dass der zur Verfügung stehende Aether bezüglich seiner Qualität einiges zu wünschen übrig liess; darauf sowie auf eine Vorrichtung zum Kühlen des Messers ist natürlich bei höherer Temperatur der Umgebung besonders zu achten.

Bei der bisher betrachteten Verwendung des Gefrierens hatte man in erster Linie den Zweck im Auge, frisches Material unter Ausschluss von Alkohol und anderen härtenden Reagentien rasch schneidbar zu machen. Die Schnitte konnten dann je nach Bedürfniss weiter behandelt werden. Nun hat ALTMANN[18]) ein Gefrierverfahren angegeben, von dem er rühmt, es erhalte die Reaktionsfähigkeit der Gewebe und die Formen der Elemente, seiner Bioblasten, in ihrem natürlichen Zustande. Die Präparate, welche die beiden Gefriermethoden liefern, unterscheiden sich insoferne sehr wesentlich voneinander, als ALTMANN's Verfahren, das übrigens besondere Einrichtungen verlangt, Objekte liefert, die in ihrem Volumen zwar unverändert, aber vollständig wasserfrei sind. Dies sei sogar der einzige Unterschied, durch welchen sie sich von dem frischen Zustand unterscheiden. Man soll dies dadurch

erreichen, dass man frische Organstückchen gefrieren und im gefrorenen Zustand bei einer Temperatur von unter — 20° C. oder noch besser bis nahe an — 30° C. heran einige Tage lang über Schwefelsäure im Vakuum vollständig austrocknen lässt. Solche ausgefrorene Objekte werden dann im Vakuum direkt mit geschmolzenem Paraffin durchtränkt und erst die Schnitte den fixirenden Reagentien und Färbeflüssigkeiten ausgesetzt. Dass bei Behandlung der Objekte mit geschmolzenem Paraffin und später mit Xylol die in der zuletzt genannten Flüssigkeit löslichen Substanzen verloren gehen, braucht kaum besonders erwähnt zu werden.

Vielleicht lässt sich auch die vitale Methylenblaureaktion nicht blos nach vorheriger Einwirkung von Ammoniumpikrat-Ammoniak (Apáthy), sondern auch direkt und ausschliesslich durch ein solches »Austrocknen unterhalb der kritischen Temperatur« bis zum Einschluss der Schnitte in Kanadabalsam konserviren (Altmann).

Während bisher die zu schneidenden Objekte direkt oder höchstens durch Vermittlung einer indifferenten Flüssigkeit oder einer leimähnlichen Masse der Gefrierplatte aufgesetzt wurden, haben wir nun vor allen Dingen der Mittel zu gedenken, mit welchen die frischen Objekte mehr oder weniger innig durchtränkt wurden. um sie länger im überlebenden Zustand zu erhalten, um sie leichter schneidbar zu machen oder um deren Schrumpfung vorzubeugen. Hier ist in erster Linie das von Rollett[14]) empfohlene Eiweiss zu nennen. Er bringt kleine, dem lebenden Thiere eben entnommene Muskelstückchen in Eiweiss frisch gelegter Hühnereier, setzt sie dann mit den daran hängenden Eiweisstropfen auf ein Gefriermikrotom und bringt sie, nachdem sie aufs neue mit Eiweiss beträufelt sind, zum Gefrieren. Man schneidet sie mit gut gekühltem Messer. Der noch gefrorene Schnitt wird auf einen Objektträger gelegt und kann direkt in dem aufthauenden Eiweiss untersucht werden. Letzteres kann später durch verdünntes Glycerin (2 Th. Glycerin und 1 Th. Wasser) verdrängt werden, die Schnitte werden darin durchsichtiger, ohne zu schrumpfen. Querschnitte von Muskeln dagegen, die ohne Zusatz von Eiweiss zum Gefrieren gebracht werden, schrumpfen in Glycerin.

Die gegenwärtig dominirenden Einbettungsverfahren mit Paraffin und Celloidin verlangen beide durchaus die längere Einwirkung von Alkohol; je nachdem man die eine oder die andere wählt, muss das Objekt auch durch Xylol, Chloroform und dergl. oder Aether hindurchgeführt werden, alles Substanzen, welche gewisse Zelleinschlüsse (Fett, gewisse Pigmente, Vorstufen von Sekret) auflösen. Material, das mit Solutionen von Chromsäure, chromsauren Salzen etc. kürzere oder längere Zeit vorbehandelt worden war, lässt sich ohne Schwierigkeit zum Gefrieren bringen, doch ist es zweckmässig, die Objekte vorher durch Auswaschen in Wasser von den Fixirungsflüssigkeiten zu befreien. Man kann also auf diese Weise hinreichend feine Schnitte erhalten, ohne das Material der Einwirkung von Alkohol ausgesetzt zu haben. Besonders für die Erhaltung der farbigen Blutkörperchen, die an frisch gefrorenem Materiale sehr leicht zerstört werden, erweist sich vorheriges Einlegen in Müller'sche Flüssigkeit (1—3—24 Stunden lang) als vortheilhaft. Sind bei kürzerer Einwirkung des Kaliumbichromats solche Schnitte noch sehr zerreisslich, so bringe man sie noch auf einige Zeit in stark verdünnte Müller'sche Lösung, um dem Verkrümmen und Zusammenrollen vorzubeugen und sie, nachdem sie resistenter geworden sind, ohne dass sie Schaden leiden, in Farblösung übertragen zu können (Heller[15]), Orth[16]).

An fixirten Objekten soll die Bildung von Eiskrystallen verhindert werden, wenn man das zu schneidende Material vorher mit einer Lösung von Gummi arabicum durchtränkt und es auf der Gefrierplatte mit einem

Mantel dieser Substanz umgiebt, wie ich das schon in den Achtzigerjahren von einem englischen Kollegen, der vorübergehend in Halle arbeitete, ausüben sah (vergl. auch LEE und MAYER, pag. 112). Andere bringen vor dem Schneiden die Objekte in Zuckersaft (2 Theile Zucker und 1 Theil Wasser, HAMILTON) oder in ein Gemenge von Gummischleim und Zuckersaft (COLE). Auch machen sich dann Ungleichheiten der Konsistenz weniger störend bemerklich. Wer damit noch nicht auskommt, mag Dextrinlösung (WEBB 1890) oder Gelatine mit Gummi arabicum und Traganth (JACOBS 1885) versuchen, die zu ähnlichem Zwecke empfohlen wurden.

Will man solche Gefrierschnitte aus fetthaltigem, in MÜLLER'scher Lösung fixirtem Material noch nachträglich zum färberischen Nachweis des Fettes tingiren, so kann dies nach der Methode von DADDI[33]) mit Sudan III geschehen. Hier wird der Alkohol allerdings nicht ganz vermieden, denn es gelangt eine alkoholische Lösung des Farbstoffs zur Verwendung, aber auch sie wirkt, wenn man von Stückfärbung absieht, auf Schnitte nur etwa 5 Minuten ein.

Besonders gut eignet sich Material, das in Formol fixirt war, zur weiteren Behandlung auf dem Gefriermikrotom. Die Kombination beider Methoden stellt wohl, wie wir gleich sehen werden, das rascheste Verfahren, Dauerpräparate zu gewinnen, überhaupt dar. Die Koncentration ist die übliche (4%iger Formaldehyd oder 10%ige Formollösung); die Fixirungsflüssigkeit kann vorher in Wasser ausgewaschen werden, es ist aber nicht absolut erforderlich, nach PLENGE[31]) eher von Nachtheil, da Formollösungen direkt zum Gefrieren gebracht werden können, wenn auch das Eis solcher Lösungen nicht so stark ist als das Eis aus reinem Wasser, weshalb auch nicht ausgewaschenes Formolmaterial nicht so hart gefriert als solches, das mit Wasser oder Salzlösungen imbibirt ist. Deshalb empfiehlt es sich, zum Anfrierenlassen harter Gewebe, wie Knorpel, Cutis und dergl., Wasser zu nehmen (PLENGE).

Wahrscheinlich war CULLEN[26]) der erste, der das Formol im Bunde mit der Gefriertechnik zur raschen Herstellung von Dauerpräparaten, zur Vorführung von solchen womöglich noch während der Operation oder Sektion verwandte. Das Verfahren, das dann von HODENPYL[35]) insoferne verbessert wurde, als dieser die Schrumpfung und Verzerrung der Schnitte beseitigen lehrte, besteht im wesentlichen aus folgenden Massregeln: Man härte die auf dem Gefriermikrotom zu schneidenden Objekte 1—2 Stunden oder länger in 10%iger Formollösung, wasche sie vor dem Aufsetzen auf die Gefrierplatte 1—2 Minuten in Wasser aus und bringe die Schnitte direkt in eine Eiweisslösung von folgender Zusammensetzung: Eiweiss 50 Ccm., Aqua dest. 150 Ccm., koncentrirte, durch Zusatz von Lithiumkarbonat etwas alkalisch gemachte Salicylsäurelösung 50 Ccm., hierzu noch als Konservirungsmittel etwas Kampher. Die Schnitte werden mittels dieser Eiweisslösung auf Deckgläschen aufgeklebt. Um das Eiweiss koaguliren zu lassen und um später nach vorgenommener Färbung die Präparate in Kanadabalsam aufstellen zu können, ist Passiren durch Alkohol, bezw. Alkohol und Aether erforderlich.

Etwas einfacher gestaltete sich das CULLEN'sche Verfahren unter den Händen von PLENGE[31]). Er härtet gleichfalls in 4%iger Formollösung, entnimmt, wenn noch während der Sektion gefärbte und in Kanadabalsam eingeschlossene Schnitte demonstrirt werden sollen, schon nach $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde dem eingelegten Materialwürfel Scheiben von etwa 0,5 Mm. Dicke mit dem Doppelmesser oder dem Rasiermesser, um sie sodann auf dem Gefriermikrotom zu zerlegen. Gewöhnlich aber härtet er möglichst glatt geschnittene Scheiben von etwa 1 Cm. Seitenlänge in 4%iger Formollösung, lässt in dieser Lösung oder in Wasser anfrieren und fängt die Schnitte in Wasser auf, das durch Kochen luftfrei gemacht ist, oder noch besser in 50%igem

Alkohol, denn in diesem entweichen die störenden Luftbläschen, die sich regelmässig in Gefrierschnitten finden, noch leichter als in abgekochtem Wasser. Nun kann man, wenn man koncentrirteren Alkohol vermeiden will, die Schnitte entweder in ungefärbtem Zustand in Wasser oder Glycerin untersuchen oder sie mit Farbstoffen weiterbehandeln, um sie schliesslich durch die bekannten Etappen hindurch in Kanadabalsam zu überführen. Auch bei den Balsampräparaten waren nach Plenge sämmtliche Zellgranulationen, Fetttröpfchen, Pigmente vollkommen erhalten, nur der Versuch, Glykogen nachzuweisen, misslang. Für Rückenmark und Gehirn giebt das Verfahren schon nach 1—2stündiger Einwirkung des Formaldehyds vortreffliche Resultate. Plenge verwandte das Gefriermikrotom von Jung (Katalog Nr. 119), das schon von Schiefferdecker (Zeit. wiss. Mikr., 1892) beschrieben und empfohlen wurde.

Eine weitere Verwendung der Kombination von Formolfixirung und Gefrierverfahren giebt neuerdings Fajersztajn[37]) an, und zwar für die Untersuchung der Medulla oblongata, des Rückenmarks und der peripheren Nerven. Die vom gefrorenen Formolmaterial erhaltenen Schnitte werden mit einer Chromsäurelösung gebeizt, in Hämatoxylin gefärbt und nach Pal's Vorschrift differenzirt. Es bildet sich bei dieser Behandlung ein Chromlack, der, in der Regel wenigstens, an den Axencylindern festhaftet.

So ganz unbedenklich scheint mir übrigens die Fixirung in Formol nicht zu sein. Ich habe wenigstens in Drüsenzellen (Gl. submaxillaris des Menschen) massenhafte Vakuolen wahrgenommen und auch in Rückenmarksstücken nach dieser Vorbehandlung ähnliche Kunstprodukte gesehen. Wenn es nur darauf ankommt, rasch Uebersichts- und Orientirungspräparate zu bekommen, wird man darüber hinwegsehen können und mit dieser Einschränkung die Ansicht Fajersztajn's theilen dürfen, dass »die Anwendung der Gefriertechnik am Formolmateriale augenscheinlich an Verbreitung zunehme«. Allein ein treues Zellenfixirungsmittel ist das Formol nicht. Man muss daher in der That mit Plenge die Methode von Benda[27]) eine »Ergänzung« seines Verfahrens nennen. Benda fixirt in Alkohol, behandelt hierauf erst mit Formaldehydlösung, wäscht gründlich in Wasser aus und stellt dann erst die Gefrierschnitte her. »Ein so hergerichtetes Gewebsstück gefriert sehr leicht und schneidet sich wie Modellirwachs. Als Zeichen, dass die Durchtränkung beendet, ist das Untersinken der vorher auf der Formollösung schwimmenden Stücke anzusehen« (Meissner[30]). Nach dieser Methode lassen sich ohne Schwierigkeit Schnitte von 5, ja selbst von 3 μ herstellen.

Bei solchem fixirten und nachträglich gewässerten Material, das zum Gefrieren gebracht wird, ist es aber, wie H. Kühne[20]) hervorhebt, schwer, den »für das Schneiden richtigen Kältegrad des Eises zu treffen und denselben dauernd auf gleicher Höhe zu erhalten«. Infolge davon kommt es zu Abgleiten des Messers und zu ungleichmässigen Schnitten oder, wenn man dem Thaupunkt zu nahe kommt, zu Ablösung des Materials von der Metallplatte. Dies lässt sich vermeiden, wenn man Anethol oder reines Anisöl (0,1 Anisi pur. von Schimmel & Comp., Leipzig bezogen) verwendet, denn es erstarrt schon, je nachdem es älter oder frischer ist, bei höherer oder niederer Zimmertemperatur, bei 6, 18, sogar schon bei 21° R. und verlangt daher wenig Aether zum Gefrieren. Ist es in der Flasche erstarrt, so muss das Gefäss in heisses Wasser getaucht werden. Das in 2 Mm. dicke Stückchen geschnittene Material wird durch Auflegen auf Fliesspapier von Alkohol befreit und dann auf 24 Stunden in reines Anisöl gebracht. Die Entfernung dieses Oels aus den Schnitten bewirkt man durch Alkohol absolutus. Zweckmässig ist es, das Gefäss mit Alkohol direkt unter dem Messer aufzustellen, wie das z. B. an dem Gefriermikrotom von Katsch zu ermöglichen ist.

Schliesslich mag noch erwähnt werden, dass die namentlich in England und Amerika vielverwandten Gefrierapparate ihre weite Verbreitung zum Theil wenigstens dem Umstande verdanken, dass in diesen Ländern der Aethylalkohol viel theurer ist oder wenigstens war als bei uns.

Litteratur: [1]) Connheim (Virch. Arch., Bd. 34, 1865), [2]) Kölliker (Zeit. wiss. Zool., Bd. 16, 1866), [3]) Boll (Inaug.-Diss., Berlin 1869), [4]) Rutherford (Monthly mier. journ., Bd. 10, 1873), [5]) Key und Retzius (Nord. med. Arkiv., Bd. 2, 1874), [6]) Hughes (Journ. of Anat. Phys., Bd. 10, 1876), [7]) B. Lewis (Journ. of Anat. Phys., Bd. 11, 1877), [8]) Frey (Das Mikroskop und die mikroskopische Technik, 6. Aufl., 1877), [9]) Ranvier (Technisches Lehrbuch, 1877), [10]) Lewis (Brain und Dubliu Quart. Journ. med. se., Bd. 67, 1879), [11]) Key und Retzius (Biol. Unters. von G. Retzius, Bd. 2, 1882), [12]) Solger (Abh. Nat.-Ges. Halle, Bd. 15, 1882), [13]) Cathcart (Journ. of Anat. und Phys., Bd. 17, 1883), [14]) Rollett (Denk. k. Ak. Wiss. Wien, Bd. 51, 1885), [15]) Heller (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [16]) Orth (Cursus der normalen Histologie, 4. Aufl., 1886), [17]) Kitt (Oest. Mon. Thierheilk., Bd. 14, 1889), [18]) Altmann (Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen, 1890 [2. Aufl. 1894]), [19]) Stoss (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [20]) Kühne (Centr. Bakt., Bd. 12, 1892), [21]) Behrens, Kossel und Schiefferdecker (Die Gewebe des menschlichen Körpers und ihre mikroskopische Untersuchung, Bd. 1. 1892), [22]) Böhm und Oppel (Taschenbuch der mikroskopischen Technik, 2. Auflage, 1893). [23]) Lüpke (Deut. thierärzt. Woch., Bd. 1, 1893), [24]) Solger (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), [25]) derselbe (Bull. R. Ac. med. Roma, Anno 21, 1895), [26]) Cullen (John Hopkin's Hosp. bull., Bd. 6, 1896). derselbe (Centr. allg. Pathol., Bd. 6, 1895), [27]) Benda (Centr. allg. Pathol., Bd. 6, 1895), [28]) Solger (Unters. Naturlehre Mensch., Bd. 15, 1895), [29]) derselbe (Festschr. f. Gegenbaur, Bd. 2, 1896), [30]) Meissner (Mikroskopische Technik der ärztlichen Sprechstunde, Berlin 1896, 2. Aufl. 1902), [31]) Plenge (Virch. Arch., Bd. 144, 1896), [32]) Pick (Allgem. med. Centr., Bd. 67), [33]) Daddi (Arch. ital. Biol., Bd. 26), [34]) Johne (Zeit. f. Thiermed., N. F., Bd. 1, 1897), [35]) Hodenpyl (Med. Rec., 1896), [36]) Lee und Mayer (Grundzüge, 1898), [37]) Fajersztajn (Poln. Arch. biol. med. Wiss., Bd. 1, 1901), [38]) Ch. R. Bardeen (John Hopkin's Hosp. bull., Bd. 12, 1901), [39]) A. Noll (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), [40]) R. Rosemann (Mitth. naturw. Vers. Neuvorpomm. u. Rügen, Jahrg. 38, 1901), [41]) J. H. Wright (Centr. allg. Pathol., Bd. 12, 1901).

Schlussbemerkung. Meist wurden die citirten Arbeiten im Original nachgesehen; wo mir diese nicht zu Gebote standen, hielt ich mich an die betreffenden Referate in der Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie und mikr. Technik. *Solger*, Greifswald

Gefriermikrotom siehe Gefriermethoden.

Gehirn. Es kann nicht die Aufgabe dieser Encyklopädie sein, Vorschriften über die Herausnahme des Gehirns aus der Schädelhöhle zu geben. darüber müssen die Werke über Zootomie und Sektionstechnik instruiren. Im allgemeinen wird man wohl meistens das Gehirn in toto eventuell in Zusammenhang mit dem Rückenmark herausnehmen und da, wo es sich um systematische Untersuchungen handelt, auch in toto fixiren. Das letztere ist auch bei den für die Hirnmikrotechnik meistens angewandten Fixationsflüssigkeiten ohne weiteres möglich. Nur bei ganz grossen Säugern und beim Menschen ist es besser, wenn man die Fixationslösung zunächst durch die Gefässe injicirt und erst dann das Gehirn herausnimmt und in ein recht grosses Quantum der Lösung einlegt.

Als Fixirungsflüssigkeit kommt für das Gehirn am meisten in Betracht die Müller'sche Flüssigkeit. Man nehme von derselben reichliche Mengen. für ein menschliches Gehirn etwa 10 Liter und wechsle die Flüssigkeit in der ersten Zeit täglich. Von der zweiten Woche an kann man jeden dritten oder vierten Tag wechseln, später nur jede Woche. Ein menschliches Gehirn, dessen Gefässe mit Müller'scher Flüssigkeit injicirt worden sind, braucht zur definitiven Härtung und Chromirung ungefähr drei Monate.

Man soll das Gehirn nie direkt auf den Boden des Gefässes legen. sondern den letzteren mit einer 5—10 Cm. hohen Schicht Watte bedecken. da sich sonst die Hirnoberfläche stark durch Druck deformirt.

In neuerer Zeit ist das Formol in der Hirnmikrotechnik stark in Aufnahme gekommen und leistet in der That auch in dieser Beziehung ganz vorzügliche Dienste, da es bei genügender Fixation der Elemente dem Gehirn in relativ sehr kurzer Zeit eine vorzügliche Konsistenz verleiht. Man kann das Formol direkt mit der Müller'schen Flüssigkeit kombiniren, vor-

theilhafter erscheint es uns jedoch, zunächst das Gehirn ein bis zwei Tage in reinem 10%igen Formol zu fixiren und dann für längere Zeit in MÜLLER-sche Flüssigkeit einzulegen. (Näheres siehe Artikel Chromsaure Salze und Formol.)

Die Weiterbearbeitung richtet sich nach den allgemeinen Grundsätzen der Mikrotechnik. Entsprechend der Grösse des Organs muss man es mehrere Tage in den einzelnen Alkoholstufen lassen, ein menschliches Gehirn in 50-, 70-, 80-, 90-, 95%igem Alkohol ungefähr je acht Tage und im absoluten, mindestens einmal zu wechselnden Alkohol die doppelte Zeit. Auch die Durchtränkung mit Celloidin erfordert lange Zeit, mehrere Monate. Man beginne mit einem recht dünnen Celloidin und setze jede Woche etwas dicke Lösung zu.

Von anderen Fixationslösungen kommen für die Bearbeitung des Gehirns dann vor allem noch in Betracht der absolute Alkohol, Alkoholessigsäure nach KRONTHAL, Alkoholchloroformeisessig nach CARNOY, koncentrirtes Sublimat. Alle diese Flüssigkeiten lassen sich nur für kleine Stücke des Gehirns, respektive nur für Gehirne kleiner Thiere verwenden, doch kann man auch bei grösseren Thieren noch durch Injektion der Fixationslösung in die Gefässe zufriedenstellende Resultate erzielen.

Will man lückenlose Serien schneiden und in Paraffin einbetten, so muss man das Gehirn selbst kleinerer Thiere in einzelne Stücke zerlegen. Man warte aber damit auf jeden Fall, bis das Gehirn im absoluten Alkohol liegt, da sich die einzelnen Stücke sonst sehr stark verziehen und sehr viel Schnitte verloren gehen. Gehirne von der Grösse eines Kaninchengehirns lassen sich, in mehrere Stücke zerlegt, noch sehr gut in Paraffin einbetten und in lückenlosen Serien von 15, ja 10 μ Dicke schneiden. Man nehme zum Einbetten ein Paraffin mittlerer Härte, etwa 52°, lasse die Stücke aus Chloroform oder Benzol mehrere Stunden oder selbst über Nacht zunächst in einem weichen Paraffin bei 40—45° liegen und bringe erst dann in den Paraffinofen in das zum definitiven Einschluss gewählte Paraffin. Ausserordentlich bequem ist für derartige Einbettungen der ROSEN'sche Thermostat mit drei abgestuften Temperaturen. (Näheres siehe Paraffinaufklebeofen.)

Ueber die für das Gehirn in Betracht kommenden Färbungs-, respektive Imprägnationsmethoden vergleiche Golgimethode, Methylenblau, Nervenfasern und Nervenzellen.

Gehirnmikroskop. Um grosse Schnitte, wie Schnitte durch ein menschliches Gehirn, bequem durchmustern zu können, sind die Objekttische unserer gewöhnlichen Arbeitsstative zu klein und vor allem gilt das in Bezug auf die Entfernung der optischen Achse von der Säule. Man hat sich deshalb bemüht, durch Konstruktion besonderer Stative diesem Mangel abzuhelfen. So hat NEBELTHAU ein sogenanntes Schlittenmikroskop (LEITZ) angegeben, bei dem der Tubus durch einen Support seitlich verschoben werden kann, während der Objekttisch, der die Form eines Glaskastens hat, von ihm getrennt in der auf die erste senkrechten Richtung mittels Zahn und Trieb bewegt werden kann.

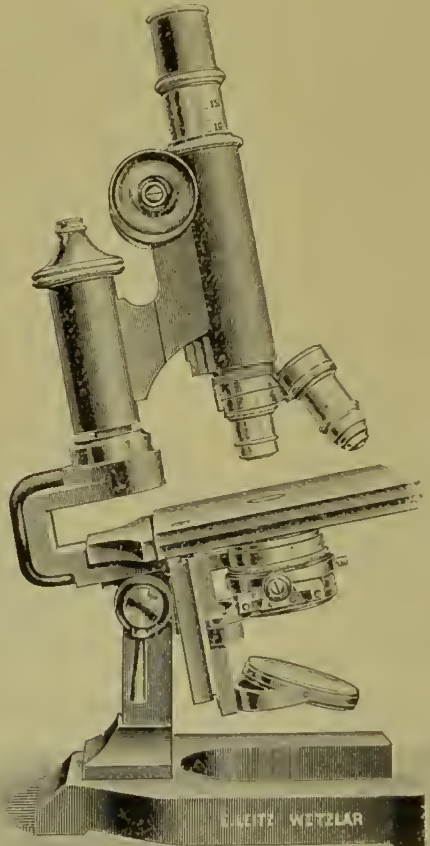
Noch einfacher und praktischer erscheint uns das (Fig. 17) von DÖLLKEN angegebene und von LEITZ gebaute Instrument. Bei ihm ist einfach die Säule nach hinten zu hufeisenförmig abgeknickt und es wird so die Entfernung der optischen Achse von der Säule, auf die es ja allein ankommt, verdoppelt.

Gehirnmikrotom. Um ganze Gehirne vom Menschen serienweise in Schnitte zu zerlegen, hat man besonders grosse und festgebaute Mikrotome konstruirt. Das älteste derartige Instrument ist wohl das von GUDDEN. Das Objekt liegt in einem mit Alkohol gefüllten Messingkasten und ist auf-

gekittet auf einen Holzklotz, der von unten her durch eine Mikrometerschraube gehoben wird. Das Messer wird mit der Hand geführt. Viel vollkommener ist das von SCHANZE gebaute Hirnmikrotom nach SCHULTZE. Der Messerschlitten wird hier durch einen Treibriemen bewegt, der durch eine Stellschraube angezogen werden kann. Die Konstruktion ist ausserordentlich fest und solide, die Mikrometerschraube so fein geschnitten, dass sich noch Schnitte unter 30 μ Dicke durch ein ganzes menschliches Gehirn fertigen lassen.

Gehörorgan. Die histologische Bearbeitung des Gehörorgans gehört anerkanntermassen zu den schwierigsten Kapiteln der histologischen Technik. Einmal besitzt das häutige Labyrinth der höheren Wirbelthiere einen ausserordentlich komplicirten Bau, die einzelnen Theile sind durch weite, mit Flüssigkeit erfüllte Räume von einander getrennt, die Membrana basilaris mit dem ihr aufsitzenden CORTI'schen Organ brückt sich frei durch den Ductus cochlearis durch, die einzelnen Bestandtheile jenes Organs liegen nicht dicht aneinander, sondern lehnen sich nur leicht, durch Zwischenräume getrennt aneinander, alles das sind Momente, die eine ausserordentlich subtile Technik verlangen. Dazu kommt noch, dass die komplicirtest gebauten Theile des Gehörorgans tief im Knochen eingebettet und den fixirenden Agentien nur schwer zugänglich sind.

Fig. 17.



Bei den niederen Wirbelthieren etwa bis zu den Amphibien aufwärts liegen die Verhältnisse in dieser Beziehung nicht so ungünstig. Bei Fischen und Amphibien gehört meist keine besondere Geschicklichkeit dazu, das häutige Labyrinth mit einem scharfen Skalpell, eventuell mit Hülfe der Knochenzange freizulegen und der Fixationslösung zugänglich zu machen. Aehnlich liegen auch die Verhältnisse bei vielen Nagethieren, besonders bei dem für diesen Zweck gerade mit Vorliebe benutzten Meerschweinchen. Hier ragt die Schnecke frei in die grosse Höhle der Bulla hinein und ihre Knochenwand ist, wenigstens bei jungen Thieren so dünn, dass man das Schläfenbein nach breiter Eröffnung der Bulla direkt in die Fixationslösung einlegen kann. Bei den meisten anderen höheren Wirbeltbieren aber wird man das knöcherne Labyrinth an einer oder mehreren Stellen (Schneckenbasis und vorderer Bogengang) öffnen müssen, um die Fixationslösung eindringen zu lassen. Das hat aber sein Missliches, denn mit der Eröffnung des knöchernen Labyrinths, die im übrigen unter Flüssigkeit, Fixationslösung oder physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen werden soll, ändern sich die Spannungsverhältnisse in demselben und man erhält häufig Verzerrungen und Zerreissungen der REISSNER'schen Membran und selbst der Membr.

basilaris. Wir können deshalb vor dieser Methode nur warnen und in jedem Falle, in dem es nur irgendwie angängig ist, empfehlen, die Fixationslösung von der Karotis, bei kleineren Thieren auch von dem Herzen, respektive der Aorta aus zu injiciren. Man präparirt dann das Felsenbein heraus und lässt es noch einige Zeit in der Lösung liegen.

Es giebt aber leider Fälle, wo eine Injektion von den Blutgefässen aus nicht möglich ist, z. B. beim Menschen. Will man hier gute Präparate erhalten, so muss man bald nach dem Tode fixiren, und da lässt sich leider eine solche Injektion häufig nicht machen. In solchen Fällen empfehlen wir die folgende Art des Vorgehens, die uns schon einigemale sehr gute Dienste geleistet hat. Man geht mit einem recht dünnen, am besten gläsernen Tubenkatheter durch die Nase in die Tuba Eustachii ein und injicirt 0,5%ige Osmiumsäure in die Paukenhöhle. Der Katheter muss so dünn sein, dass die Luft neben ihm entweichen kann. Dann nimmt man nach 24 oder 48 Stunden das Schläfenbein heraus und legt es für einige Tage in toto in Pikrinsublimatessigsäure ein. Auch bei grossen Affen (Orang Utan, Schimpanse) haben wir auf diese Weise gute Präparate erzielt.

Zur Fixation des häutigen Labyrinths hat man vor allem die Chromsäure und die Osmiumsäure und Gemische beider bevorzugt. So fixirt Flesch in einer 0,25%igen Chromsäure mit Zusatz von 0,1% Osmiumsäure, Prenant benutzt 1%ige Osmiumsäure oder Flemming'sche Flüssigkeit. Katz legt die Schnecke zunächst in 0,5%ige Osmiumsäure für 10 Stunden und setzt dann eine 0,3%ige Chromsäure mit 0,5% Eisessig zu, nach 4 Tagen wird die Chromessigsäure gewechselt. Wir ziehen von den Osmiumgemischen die Hermann'sche Flüssigkeit für diesen Zweck allen anderen vor und lassen z. B. die Schnecke vom Meerschweinchen oder Kaninchen 3—5 Tage, ein längerer Aufenthalt schadet auch nicht, in derselben liegen. Zur Injektion in die Blutgefässe empfehlen wir vor allem die auf Körpertemperatur erwärmte Zenker'sche Flüssigkeit, die auch Rickenbacher für diesen Zweck verwendet. Nach der Injektion wird das Felsenbein herauspräparirt und für 2—3 Tage in dieselbe Flüssigkeit eingelegt. Neben der Zenker'schen empfiehlt sich zur Injektion noch die Podwyssozki'sche Flüssigkeit (0,5%ige wässerige Sublimatlösung 15, Chromsäure 0,15, 2%ige Osmiumsäure 4, Eisessig 6—8 Tropfen), nach der Injektion einlegen für 2—3 Tage in Zenker'sche Flüssigkeit. Die Zenker'sche Flüssigkeit hat den grossen Vorzug, dass sie alle Färbungen später zulässt.

Nach gründlichem Auswässern, bei Zenker 24 Stunden in fliessendem Wasser, folgt dann die Entkalkung. Ueber die näheren Details sehe man im Artikel »Knochen« nach. Speciell für die Entkalkung des Labyrinths sind empfohlen worden 0,5%ige Chromsäure, koncentrirte Pikrinsäure, 3,5%ige Salpetersäure, Salpetersäure-Alkohol, Phloroglucin-Salzsäure, Palladiumchlorür-Salzsäure und viele andere. Wir entkalken ausschliesslich in einer 3—5%igen wässerigen Trichloressigsäure, die täglich gewechselt wird. Diese Entkalkungsmethode ist ausserordentlich schonend und erlaubt jede Färbung. Man kann auch nach dem Vorgang von Rousseau erst die in Celloidin oder Paraffin eingebetteten Präparate mit Salpetersäure oder Salpetersäure-Alkohol (Stein) entkalken. Nach der Entkalkung in Trichloressigsäure (eine Meerschweinchen- oder Kaninchenschnecke braucht 2 bis 3 Tage, eine Katzenschnecke 3—5 Tage) wird 24 Stunden in fliessendem Wasser ausgewaschen, in steigendem Alkohol entwässert und dann eingebettet.

Im allgemeinen ist die Celloidineinbettung der Paraffineinbettung vorzuziehen, doch liefert letztere, sorgfältig gehandhabt, unter Umständen vorzügliche Resultate. Zu diesem Zweck gelangen die gründlich entwässerten Präparate für 24 Stunden in gleiche Theile absoluten Alkohols und Chloro-

form, dann für ebensolange Zeit in reines Chloroform. Am folgenden Tag bringt man das im Chloroform befindliche Präparat in die obere Abtheilung des ROSEN'schen Paraffinofens (siehe Paraffin-Aufklebeofen) bei 42—45° und sättigt im Laufe des Tages das Chloroform mit Paraffin. Am nächsten Tage gelangt dann das Präparat in eine Schale mit Paraffin von 45° Schmelzpunkt, bleibt in derselben über Nacht und wird am nächsten Morgen in Paraffin von 52° Schmelzpunkt eingeschlossen.

Durch diesen Modus procedendi gelingt es unschwer, das Felsenbein kleinerer Thiere bis zur Katze hinauf in lückenlose Serien von 10—5 μ Schnittdicke zu zerlegen bei schönster Erhaltung der feinsten histologischen Details.

Bei grösseren Objekten muss man allerdings von der Paraffineinbettung absehen und zu der Celloidineinbettung übergehen, die nach den allgemein giltigen Regeln erfolgt. Auch kombinirte Celloidin-Paraffineinbettung leistet in manchen Fällen gute Dienste. Wir lassen die Objekte 8—14 Tage in einer dünnen frisch zubereiteten Celloidinlösung in gut verschlossener Flasche, lassen gut abtropfen und übertragen dann direkt in Chloroform, dann Paraffineinbettung, wie gewöhnlich.

Zur Untersuchung der vielumstrittenen Nervenendigung in den Maculae, Cristae und dem CORTI'schen Organ kann sowohl die Golgi- als auch die Methylenblaumethode herangezogen werden. Zur ersteren eignen sich nur die noch nicht oder ganz wenig verkalkten Schnecken von neugeborenen Mäusen, Kaninchen oder Meerschweinchen der letzten Schwangerschaftswoche. Näheres sehe man in dem Artikel »Golgimethode« ein.

Die Methylenblaufärbung gestaltet sich bei niederen Wirbelthieren sehr einfach. MORILL legt die herauspräparirten Ampullen von Scyllium in physiol. Kochsalzlösung, der er so viel Methylenblaulösung zusetzt, dass die Flüssigkeit eben noch durchsichtig ist, lässt das Ganze bei 30° $^5/_4$ Stunden lang stehen, wobei ab und zu Luft durchgeblasen wird, setzt dann 10 bis 15 Minuten der Luft aus und fixirt. NIEMACK schüttelt das häutige Labyrinth des Frosches in ganz dünner Methylenblaulösung bis zur Schaumbildung, lässt noch $^3/_4$ Stunden darin und fixirt dann. Für die höheren Wirbelthiere lassen diese primitiven Methoden im Stich. Wir empfehlen hier Injektion von 0,5—1%iger Lösung von Methylenblau chemisch rein, krystallisirt (Höchst) in die Vena femoralis. Alle 5—10 Minuten wird 1 Ccm. injicirt bis zum Tod des Thieres. Dann wird die Schnecke frei präparirt $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde an der Luft liegen gelassen und in 10%igem Ammoniummolybdat fixirt über Nacht. Auswaschen 2 Stunden in fliessendem Wasser und entkalken in 5%iger Trichloressigsäure mit Zusatz einer Spur Platinchlorid. Auswaschen in fliessendem Wasser 24 Stunden, entwässern und Einschluss in Paraffin. Diese Methode liefert häufig, allerdings durchaus nicht immer sehr gute Resultate. Am meisten eignen sich nicht zu junge Kaninchen (6—9 Monate) und Katzen.

Für die Bearbeitung des mittleren und äusseren Ohres gelten die gewöhnlichen histologischen Methoden. Auch hier empfehlen wir ZENKER'sche Flüssigkeit oder Pikrinsublimatessigsäure im Gegensatz zu ESCHWEILER, der den 50%igen Alkohol als Fixationsmittel empfiehlt. Für die Darstellung der Nerven des Trommelfells eignet sich vor allem die RANVIER'sche Citronensaftmethode, doch giebt auch die oben beschriebene Methylenblaumethode recht gute Resultate.

Litteratur: FLESCH (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), PRENANT (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 9, 1892), KATZ (Mon. Ohrenheilk., Jahrg. 1888), derselbe (Arch. Ohrenheilk., Bd. 31, 1890), RICKENBACHER (Anat. Hefte, 51, 1901), STEIN (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), MORILL (Journ. Morph., Bd. 14, 1897), NIEMACK (Anat. Hefte, Bd. 2, 1892), ESCHWEILER (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898). Für die makroskopische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans empfehlen wir POLITZER (Die anatomische und histologische Zergliederung des menschlichen Gehörorgans. Stuttgart 1899).

Geisselfärbung. Unter Geisseln versteht die Bakteriologie die meist ausserordentlich feinen, fadenartigen Bewegungsorgane zahlreicher, beweglicher Bakterienarten. Sie bestehen aus Protoplasmasubstanz, übertreffen meist die Länge des Bacillus um das Vielfache und sind ihm bald in der Einzahl, bald in der Mehrzahl entweder an seinen Enden oder rings um ihn herum angeordnet. Im ungefärbten oder gefärbten Präparat sind sie wegen ihrer Feinheit nicht ohne weiteres sichtbar, sondern erfordern besondere Methoden. Nur erwähnt GÜNTHER, dass er an sehr grossen Spirillen die Geisseln mehrmals im einfachen hängenden Tropfen wahrgenommen habe. Die ältesten Methoden, sie sichtbar zu machen, stammen von R. KOCH. Zuerst gelang es ihm, bei einigen Bacillen- und Spirillenarten in einfachen, angetrockneten, ungefärbten Deckglaspräparaten bei gewisser Beleuchtung Geisseln sichtbar zu machen und zu photographiren. Sein Verfahren wird nach GÜNTHER am besten folgendermassen ausgeführt: Die in Wasser suspendirten Bakterien werden in dünnster Schicht auf dem Deckglase ausgebreitet; man lässt die ausgebreitete Wasserschicht verdunsten und befestigt das Deckglas dann so auf einem Objektträger, dass es, die Bakterienschicht nach unten gekehrt, mit seinem Rande auf einem Rähmchen von dünnem Papier ruht, welches mit dem Objektträger sowohl wie mit dem Deckglas durch Kanadabalsam verbunden wird. Bei Anwendung von Oelimmersion, ABBÉ'schem Kondensor und mittelweiter Blende sieht man dann bei passendem Material ohne weiteres die Geisselfäden.

Gleichzeitig beschrieb R. KOCH auch eine Methode, sie mit koncentrirter wässeriger Lösung von Kampecheholzextrakt zu färben. Doch lassen sich damit nur bei einigen Arten die Geisseln darstellen. Die meisten Arten hingegen nehmen diese Färbung ebensowenig an wie die üblichen Anilinfarben bei Färbung nach der gewöhnlichen Technik. Um die Geisseln für diese Farben aufnahmefähig zu machen, bedarf es eines vorherigen Beizprocesses, den die meisten neueren Methoden zwecks »Anrauhung« der Geisseloberfläche vor die Färbung eingeschoben haben.

Das erste derartige Verfahren wurde von LÖFFLER angegeben. Seine Vorschrift lautet: Geringe Mengen von Reinkultur werden in einem Tröpfchen Wasser suspendirt und von diesem ersten Tröpfchen eine Anzahl weiterer Wasserströpfchen, welche auf Deckgläschen mit der Platinöse aufgetupft sind, besäet. Die Deckgläschen müssen durch Erhitzung in koncentrirter Schwefelsäure, Abspülung in Wasser und Ammoniakalkohol und Putzen mit einem sauberen, fettfreien Tuche peinlichst gereinigt sein. (Siehe auch Geisselfärbung bei »Abdominaltyphus«.) Die Tröpfchen werden dann mit der Platinnadel vorsichtig vertheilt. Nachdem die Deckgläschen lufttrocken geworden sind, werden sie durch die Flamme gezogen, um sie zu fixiren. Nunmehr wird auf das leicht erwärmte Deckgläschen die Beize aufgeträufelt und während der $^1/_2$—1 Minute dauernden Färbung bis zur Dampfbildung (nicht bis zum Kochen!) erwärmt. Hierauf folgt die Abspülung der Beize mit einem kräftigen Wasserstrahl und vollständige Entfernung des Wassers durch Abspülung mit absolutem Alkohol. Darauf wird die Farblösung aufgetropft, wiederum 1 Minute erwärmt, mit Wasser abgespült, getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die Vorschrift für die Zusammensetzung der Beize nach LÖFFLER lautet: Man setzt zu 100 Ccm. einer 20%igen Tanninlösung 50 Ccm. kaltgesättigte Ferrosulfatlösung und 10 Ccm. wässerige oder alkoholische Fuchsin-, Methylviolett- oder Wollschwarzlösung.

Für die meisten Bakterien empfiehlt LÖFFLER noch einen besonderen, für jede Art empirisch bestimmten Alkalizusatz, und zwar setzt er von einer 1%igen Natronlauge zu 16 Ccm. Beize zu bei Cholera $^1/_2$—1 Tropfen, bei Typhus 20—22 Tropfen, bei Subtilis 28—38 Tropfen, bei malignem Oedem

36—37 Tropfen, bei Pyocyaneus 5—6 Tropfen, bei Spirillum rubrum 9 Tropfen. Doch stellten eine Reihe von anderen Autoren fest, dass diese Zusätze unwesentlich seien.

Als Farbe verwandte Löffler eine Anilinwasserfuchsinlösung, die folgendermassen bereitet wird: 4 Ccm. Anilinöl werden mit 100 Ccm. Aq. dest. mehrere Minuten gut geschüttelt und klar filtrirt; hierzu werden 4 Grm. Fuchsin zugesetzt, gelöst und die Lösung nochmals filtrirt.

Nach unseren Erfahrungen im Breslauer hygienischen Institut erzielt man mit Löffler's Methode sehr gute und bei Innehaltung gewisser Vorsichtsmassregeln (s. die ausführliche Darstellung bei Abdominaltyphus) auch fast stets gute Bilder. Besonders wichtig ist, dass das verwandte Material sich in einem Entwicklungsstadium befindet, in welchem lebenskräftige, zur Färbung besonders geeignete Geisseln vorhanden sind, d. h. in einem relativ frühen Stadium. Am besten thut man daher, vor Anfertigung des Geisselpräparats die Beweglichkeit der betreffenden Kultur zu prüfen und nur gut bewegliche Bakterien zu verwerthen. Zur Vermeidung lästiger Niederschläge empfiehlt es sich, nach Günther's Vorschlag nicht Gelatine- oder gar Bouillonkulturen, sondern hauptsächlich Agar-Oberflächenkulturen zur Entnahme von Material für Geisselpräparate zu benützen. Die Alkalisirung der Beize (siehe oben) ist auch nach unseren Beobachtungen nicht nöthig, ebenso, wie die Erwärmung der Beize oder Farbe, als welche wir (koncentrirtes Karbolfuchsin) benützen.

Selbst in gelungenen Präparaten sind nur bei einem Theil der Individuen die Geisseln gut gefärbt; bei vielen sind sie nur schattenhaft angedeutet, bei vielen schliesslich gar nicht sichtbar. Meistens findet man auch vereinzelte, von dem Bakterienleib losgerissene Geisselfäden. Die Bakterienkörper sehen in derartigen Präparaten plumper und grösser als in gewöhnlichen gefärbten Präparaten aus. Dies rührt davon her, dass durch diese technische Behandlung auch die sogenannte Rindenschicht mitgefärbt wird, die sonst ungefärbt bleibt.

Zur Vermeidung der für jede Bakterienart verschiedenen, von Löffler empfohlenen Zusätze zu der Beize hat R. Bunge eine Aenderung derselben dahin vorgenommen, dass 25 Theile einer 20fach verdünnten Eisenchloridlösung mit 75 Theilen einer gesättigten wässerigen Tanninlösung versetzt werden. Dieser Mischung wird direkt vor dem Gebrauch soviel einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung zugesetzt, bis sie röthlich-braun wird. Nach der Filtrirung ist diese Beize sogleich brauchbar. Bunge lässt sie 1 Minute unter gelindem Erwärmen auf die wie bei Löffler angefertigten Deckglaspräparate einwirken. Hierauf werden sie in Wasser abgespült und in ebenfalls leicht erwärmtem Karbolfuchsin oder Karbolgentianaviolett gefärbt. Hierauf wiederum Abspülen in Wasser und weitere Behandlung in der gewöhnlichen Weise.

Eine weitere Modifikation der Beize haben Körner-Fischer angegeben. Ihre Beize besteht aus Tannin 2,0, Aq. dest. 20,0, Ferrosulfatlösung (1 : 2) 4,0 und gesättigte alkoholische Fuchsinlösung 1,0. Dieselbe hat unter Erwärmen eine Minute einzuwirken und wird dann mit Wasser abgespült. Hierauf folgt Nachfärbung mit Anilinwasserfuchsin, Karbolfuchsin oder gesättigtem wässerigem Fuchsin. Hierauf Abspülen in Wasser u. s. w. — Eine neuerdings angegebene Methode zur Geisselfärbung von Peppler s. bei Tetanus.

Ein von den bisher beschriebenen wesentlich abweichendes Verfahren hat van Ermengem angegeben. Auch er legt zunächst sehr grossen Werth auf die peinlichste Säuberung der Deckgläschen. Dieselben werden in einer Mischung von Kal. bichrom. und Acid. sulfuric. conc. aa. 60,0, Aq. dest. 1000,0 gekocht, dann mit Wasser und Alkohol absol. mehrmals abgespült und ohne Abwischen in aufrechter Stellung unter einer Glasglocke getrocknet.

Zur Untersuchung verwendet er nur junge Agarkulturen, von welchen Präparate in starker Verdünnung und feiner Vertheilung angefertigt werden. Nach Fixirung der Schicht wird ein Tropfen einer aus 1 Theil 2%iger Osmiumsäure und 2 Theilen 10%iger Tanninlösung bestehenden Beize aufgebracht und entweder in der Kälte $^1/_2$ Stunde oder unter Erwärmung auf 55—60° 5 Minuten zur Einwirkung gebracht. Darauf folgt Abspülung mit Wasser und absolutem Alkohol und Eintauchen des Präparates auf einige Sekunden in eine 0,25—0,5%ige Silbernitratlösung, darauf ohne Abspülen in eine Mischung von Acid. gallic. 5,0, Tannin 3,0, Kal. acetic. pur. 10,0, Aq. dest. 350,0 auf wenige Sekunden, darauf wiederum ohne Abspülen nochmals in die Silberlösung, wo es fortwährend bewegt werden muss, und von wo es nochmals auf kurze Zeit in die andere Lösung und dann wieder in das Silberbad zurückkommt, bis sich dasselbe zu schwärzen beginnt. Hierauf Abspülen in Wasser, Trocknen u. s. w.

Statt des Silberbades kann auch ein Gold-, Quecksilber- oder Uranbad etc. verwendet werden.

Die Bakterienleiber erscheinen nach dieser Methode dunkelbraun, die Geisseln dunkelschwarz.

Litteratur: R. Koch (Cohn's Beiträge, Bd. 2, 1877), Löffler (Centr. Bakt., Bd. 6 u. 7, 1889 u. 1890), Günther (Einführung in das Studium der Bakteriologie, 1898), Flügge (Mikroorganismen, I, 1896), R. Bunge (Fort. Med., Bd. 12, 1880), van Ermengem (Travaux du laboratoire d'hygiène et de bactériologie de l'Université de Gand, I, 1893, Ref. Centr. Bakt., 15).

Heymann, Breslau.

Geisseln siehe Cilien der Pflanzen.

Gelatine. Die beste französische Gelatine kommt in den Handel in Form von farblosen, ganz durchsichtigen, geruch- und geschmacklosen Blättern. Sie wird hergestellt aus sorgfältig gereinigten Kalbsfüssen. Geringere Sorten von Gelatine werden aus gewöhnlichem Leim hergestellt, man lässt ihn mit 20%iger Essigsäure quellen, wäscht in Wasser aus, verflüssigt und giesst auf Glasplatten aus.

Gelatine wird in der Mikrotechnik in ausgedehntem Masse zur Herstellung von Injektionsmassen verwendet (siehe dort). Auch als Einbettungsmasse kann sie mit Vortheil für sehr wasserhaltige Gewebe Verwendung finden, die bei der Behandlung mit Alkohol schrumpfen würden. Die Härtung der Gelatine erfolgt nach dem Erkalten in 70%igem Alkohol, Formol oder Chromsäure.

Gelenke. Zu mikroskopischen Untersuchungen der die Gelenke auskleidenden Synovialmembranen, der Gelenkzotten und Gelenkknorpel injicirt man am besten koncentrirte Sublimatlösung oder 0,5%ige Osmiumsäure mit der Spritze in das uneröffnete Gelenk, öffnet dann und legt die Gelenkenden in die gleiche Flüssigkeit. Nach dem Auswaschen und Entwässern kann man dann kleine Stückchen mit dem Rasiermesser abtrennen und in Paraffin einbetten. Auch die Vergoldung dünner, mit dem Rasiermesser losgetrennter Lamellen nach der Ranvier'schen Citronensaftmethode liefert gute Resultate. Zum Studium der Resorptionswege innerhalb der Gelenke injicirt man sterilisirte Aufschwemmungen von Tusche, Zinnober, Lösungen von indigschwefelsaurem Natron in die Gelenkhöhle des lebenden Thieres, tödtet nach bestimmter Zeit und fixirt in absolutem Alkohol.

Litteratur: Hammar (Arch. mikr. Anat., Bd. 43, 1894), Braun (Deutsch. Zeit. Chir., Bd. 39, 1895).

Gentianablau 6 B, ein spirituslösliches Anilinblau (Berlin).

Gentianaviolett. Der in der Mikrotechnik mit diesem Namen belegte Farbstoff ist in der Chemie nicht bekannt. Das im Handel befind-

liche Produkt stellt eine Mischung von Krystallviolett, Methylviolett und Dextrin dar (Berlin).

Dieser viel benutzte Farbstoff ist wohl von WEIGERT und EHRLICH in die Mikrotechnik eingeführt und zur Bakterienfärbung benutzt worden. Seine ausgedehnte Verwendung in der histologischen Technik verdankt er hauptsächlich der Empfehlung FLEMMING's und BIZOZZERO's. Gewöhnlich verwendet man eine koncentrirte Lösung des Farbstoffes in Anilinwasser (EHRLICH), es lösen sich ungefähr 1,5%, oder koncentrirte alkoholische Lösung (FLEMMING), oder man setzt zu Anilinwasser soviel einer koncentrirten Gentianaviolettlösung, bis sich auf der Oberfläche ein metallisches Häutchen bildet (GRAM). UNNA löst 1,5 Grm. Gentianaviolett in 100 Ccm. koncentrirter wässeriger Alaunlösung.

Zur Färbung mit Gentianaviolett eignet sich Material aus den verschiedensten Fixationsflüssigkeiten, vor allem aber findet es Verwendung zur Färbung von Flemming- und Hermannpräparaten. Die Dauer der Färbung (je dünner die Schnitte, desto distinkter) beträgt wenige Minuten bis zu einer halben Stunde. Die Differenzirung der stark überfärbten Präparate erfolgt am besten nach der GRAM'schen Methode mittels Jodjodkalium.

BIZOZZERO hat diese Methode etwas abgeändert. Er färbt die Schnitte 5—10 Minuten, wäscht 5 Sekunden in absolutem Alkohol aus, überträgt für 2 Minuten in Jodjodkalium (LUGOL), dann 20 Sekunden in absoluten Alkohol, 30 Sekunden in 1%ige wässerige Chromsäure, 15 Sekunden in absoluten Alkohol, nochmals 30 Sekunden in Chromsäure, 30 Sekunden in absoluten Alkohol, Nelkenöl und Balsam. So komplicirt dieses Verfahren auf den ersten Blick erscheint, so einfach ist seine Ausführung, wenn man sich die Gläser mit den betreffenden Flüssigkeiten in der richtigen Reihenfolge neben einander aufstellt. Man erhält mit dieser Methode eine ganz vorzügliche und distinkte Kernfärbung. Treibt man die Entfärbung sehr weit, so erscheinen nur noch die Nukleolen und vor allem die Mitosen tiefblau gefärbt. Die oben angegebenen Zeiten brauchen nicht genau innegehalten zu werden und müssen je nach der Schnittdicke und der Art des Materials modificirt werden. Die Chromsäure kann man ohne Schaden ganz weglassen.

Will man dieser reinen Kernfärbung mit Gentianaviolett eine Plasmafärbung anschliessen, so kann dies sehr bequem so geschehen, dass man statt des reinen absoluten Alkohols eine koncentrirte Lösung eines sauren Farbstoffes in absolutem oder 95%igem Alkohol verwendet, z. B. Orange G, Rubin S oder Erythrosin. Dabei ist aber zu beachten, dass dann die Differenzirung bedeutend rascher vor sich geht.

BRAZZOLA hat zuerst die Kombination der Gentianaviolettfärbung mit der FLEMMING'schen Saffraninfärbung empfohlen. Aus dieser Kombination hat sich dann die FLEMMING'sche Dreifachfärbung entwickelt (siehe dort).

Wie schon vorher bemerkt bildet das Gentianaviolett einen der zur Bakterienfärbung am meisten benutzten Farbstoffe, auch zur Geissel-, Fibrin- und Amyloidfärbung leistet es vorzügliche Dienste (siehe die betr. Artikel).

Zu erwähnen wäre noch seine Verwendung zur Darstellung der Epithelfasern nach KROMAYER in Anlehnung an die WEIGERT'sche Fibrinfärbung (siehe Haut).

Litteratur: WEIGERT (VIRCH. Arch., Bd. 84, 1881), EHRLICH (Deutsch. med. Woch., 1882), FLEMMING (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), BIZOZZERO (VIRCH. Arch., Bd. 85 u. 102, 1882 u. 1885), derselbe (Arch. ital. Biol., Bd. 4, 1883), GRAM (Fort. Med., Bd. 2, 1884), UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 19, 1894), BRAZZOLA (Mem. R. Acc. Sc. Bologna, Bd. 8 u. 9, 1888), KROMAYER (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892).

Georginenfarbstoff siehe Pflanzenfarbstoffe.

Gephyreen siehe Würmer.

Gerbsäure siehe Tannin, siehe auch Gerbstoffe in Pflanzen.

Gerbstoff in Pflanzen. Unter Gerbstoffen wird eine grössere Gruppe von Stoffen (Gallus-, Gerbsäuren, Glykoside der Gallussäuren und Tannin) zusammengefasst, die mit Eisensalzen eine blaue oder grüne Färbung annehmen. Werden stark gerbstoffhaltige Gewebe (z. B. Längsschnitte durch junge Rosenzweige mit Zellzügen, die glänzende gerbstoffführende Vakuolen enthalten) mit Eisenchlorid oder Eisenacetat (verdünnte Lösung) behandelt, so tritt sehr schnell intensive Färbung ein. Ferner ist der Nachweis mit Kaliumbichromat empfehlenswerth, das ausserdem aufs schärfste die Lokalisirung des Gerbstoffes erkennen lässt, wenn auch noch eine Reihe anderer Stoffe mit ihm ähnliche Fällungen geben. Der voluminöse rothbraune Niederschlag ist (im Gegensatz zu Eisenverbindungen) im Ueberschuss des Lösungsmittels unlöslich. Die zu untersuchenden Gewebe werden zweckmässig im ganzen für einen oder mehrere Tage in koncentrirte wässerige Lösung gebracht, eventuell unter die Glocke der Wasserluftpumpe (Berthold 1888), und dann erst geschnitten. — Die mit gerbstoffartigen Stoffen infiltrirten Membranen gewisser nicht mehr leitungsfähiger Holzzellen (Kernholz) und Samen werden durch Kaliumbichromat gleichfalls braun gefärbt. — Osmiumsäure wird wie durch viele andere pflanzliche Stoffe (s. z. B. Oele, pflanzliche), so besonders rasch durch Gerbstoffe reducirt, und eine bläuliche bis schwarze Färbung hervorgerufen, die durch Wasserstoffsuperoxyd rückgängig gemacht werden kann. — In der lebenden Zelle kann Gerbstoff durch Methylenblau nachgewiesen werden, mit dem es, selbst in sehr geringen Mengen, Fällung giebt. Die zu untersuchenden Zellen werden in eine 0,001- bis 0,0005%ige Lösung von Methylenblau gebracht und tritt dann sehr schnell im Zellsaft ein krystallinischer Niederschlag auf (Pfeffer). Fixirt kann diese Färbung werden durch 2—24stündige Einwirkung koncentrirter wässeriger Pikrinsäurelösung, Auswaschen in Wasser, sukcessive durch Alkohole, Xylol in Kanadabalsam (Zimmermann). Doch soll in gleicher Weise Methylenblau auch von anderen Körpern zur Ausfällung gebracht werden. In seinen Reaktionen dem Gerbstoff sehr ähnlich, also wohl eine gerbstoffartige Verbindung ist der rothe Zellsaft vieler Pflanzen (Overton).

Litteratur: Pfeffer (Arb. bot. Inst. Tübingen, Bd. 2), Waage (Ber. d. deutsch. bot. Ges., 1890), Zimmermann (Bot. Mikrotech., pag. 228), Overton (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 32, 1899).

Magnus, Berlin.

Geruchsorgan. Bei kleineren Thieren kann man den ganzen Vorderkopf, nachdem man den Unterkiefer exartikulirt, das Gehirn entfernt und den Hinterkopf durch einen dicht hinter dem harten Gaumen angelegten frontalen Sägeschnitt abgetrennt hat, in toto in die Fixationslösung einlegen. Man thut aber dann gut, durch vorsichtiges Evakuiren die Luft aus der Nasenhöhle zu entfernen, da sich sehr leicht Luftblasen in den Muscheln fangen und den Zutritt der Fixationslösung zu der Schleimhaut verhindern. Bei grösseren Thieren empfiehlt es sich, das Präparat noch dicht neben der Medianlinie in sagittaler Richtung zu halbiren. Will man nur kleine Schleimhautstückchen aus den verschiedenen Regionen der Nasenhöhle einbetten, so warte man, bis das Präparat in 80- oder 90%igem Alkohol liegt, die Schleimhaut ist dann genügend gehärtet und kann vorsichtig vom Knochen losgelöst werden.

Zur Fixation empfehlen sich koncentrirtes wässeriges Sublimat (bei 40°) (Suchanek, Goerke, Dogiel), Zenker (von Mihalkovics), Pikrinsublimatessigsäure (Neuberger), 1%ige Osmiumsäure (Dogiel), Osmiumdämpfe (Goerke), Flemming'sche Flüssigkeit (Dogiel). Will man den Knochen

mitschneiden, so muss man natürlich vorher entkalken. Einbettung in Paraffin, bei grösseren Objekten und Uebersichtsschnitten in Celloidin.

Zum Isoliren der einzelnen Elemente der Riechschleimhaut hat MAX SCHULTZE mehrtägige Maceration in kalt gesättigter wässeriger Lösung von Oxalsäure empfohlen. DOGIEL fixirt zu diesem Zweck zunächst 24 Stunden in 1%iger Osmiumsäure, wäscht in Wasser aus und macerirt dann 1 bis 3 Tage lang in ganz wenig destillirtem Wasser oder 1%igem Chloralhydrat. DISSE macerirt 3 Tage lang in MÜLLER'scher Flüssigkeit oder 24 Stunden in PACINI'scher Lösung.

Zur Untersuchung der Nervenendigung in der Riechschleimhaut hat vor allem die Golgimethode vielfach Anwendung gefunden. RAMÓN-Y-CAJAL lässt die Präparate 1—2 Tage in dem Osmiumbichromat, GRASSI und CASTRONUOVO 7 Tage, DISSE empfiehlt die doppelte oder dreifache Behandlung nach RAMÓN. (Näheres siehe Golgimethode.) Aber auch die vitale Methylenblaufärbung giebt unter Umständen recht brauchbare Resultate.

Litteratur: SUCHANEK (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890), GOERKE (ebenda, Bd. 50, 1897), DOGIEL (ebenda, Bd. 29, 1887), VON MIHALKOVICS (Anat. Hefte, Bd. 34/35, 1898), NEUBERGER (Centr. Phys., Bd. 11, 1897), MAX SCHULTZE (Untersuchungen über den Bau der Nasenschleimhaut, Halle 1862), DISSE (Anat. Hefte, Bd. 17, 1894), RAMÓN-Y-CAJAL (Nuevas aplicaciones del método de coloracion de GOLGI, Barcelona 1888), GRASSI und CASTRONUOVO (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889).

Geschmacksknospen siehe Zunge.

Geschwülste.

I. Allgemeine Methoden.

Die einfachste allgemeine Methode für alle Arten von Geschwülsten ist die, welche ganz klar das Geschwulstparenchym von dem fibrösen Stroma differenzirt, und zu diesem Zweck genügen einfache Fixirungen und zwei einfache Färbungen, eine Kernfärbung und eine Protoplasmafärbung, und man kann zu diesem Zweck Fixirung kleiner Stücke von Geschwülsten ermöglichen, indem man sie entweder in absoluten Alkohol, Formol, Sublimat oder in die verschiedenen Chrommischungen legt.

Die einfachste und beste Fixirung erhält man, indem man das Gewebe in ein Gemisch von doppelchromsaurem Kali und Eisessig legt, welches TELLYESNICZKY beschrieben hat. Dies fixirt sowohl die Kerne und das Protoplasma besser wie irgend eines der Formol- oder Sublimatgemische, es kann ebenfalls sehr leicht aus den Geweben ausgewaschen werden und lässt dann jede beliebige Färbung zu. Hinsichtlich der Färbungsmittel ist Hämatoxylin die beste und einfachste Färbung für Kerne, und die gewöhnliche Lösung von EHRLICH oder P. MAYER'S Hämateinlösung (Hämalaun) giebt die dauerhaftesten und am meisten zufriedenstellenden Erfolge. Die für den Gebrauch einfachste diffuse Färbung ist Eosin. Es giebt viele verschiedene Arten von Eosin, welche sehr verschiedene Eigenschaften haben; das, welches die besten Resultate mit der oben angegebenen Fixirungsmethode giebt, ist: Eosin B. A. Extra (Höchst) und die Stärke der Lösung sollte eine 0,5%ige in Wasser sein.

Methode I. Herstellung der Fixirungslösung: Doppelchromsaures Kali 3 Grm., Eisessig 5 Ccm., Aq. dest. 100 Ccm. Die Objekte werden 24 Stunden lang in diese Lösung eingelegt: dann sind die Stücke gründlich 12—24 Stunden lang in fliessendem Wasser auszuwaschen.

Die Nachhärtung erfolgt in Alkohol: 24 Stunden in 33%igem, 24 Stunden in 70%igem, 24 Stunden in absolutem Alkohol. Die Objekte werden dann in eine Mischung von Alkohol 75 Theile, Xylol 25 Theile für 6—12 Stunden eingelegt und dann in Xylol, bis sie völlig durchsichtig geworden sind (3—6 Stunden).

Die Stücke werden dann in geschmolzenes Paraffin (Schmelzpunkt 52°) für 3—6 Stunden, je nach ihrer Grösse, eingelegt, das Paraffin muss nach der ersten Stunde gewechselt werden.

Wenn man ein Vakuum-Paraffinöfchen besitzt, so kann dieses Verfahren bedeutend verkürzt werden. Das Stück wird für eine Viertelstunde in das Paraffinbad gelegt und ein Vakuum gemacht, dann wird das Paraffin erneuert und das Verfahren genau wiederholt für dieselbe Zeitdauer. Das Vakuum ist gerade genügend, um Luftbläschen aus dem Paraffin herauszubringen. Das Stück ist nun in einen Paraffinblock eingebettet und zum Schneiden fertig auf irgend einem der gewöhnlichen Mikrotome (Jung, Schanze). Die Schnitte können auf den Objektträger, entweder mit Wasser, Eiweiss, oder nach der japanischen Methode aufgeklebt werden.

Kurz zusammengefasst gestaltet sich diese Methode folgendermassen: 1. Fixirung 24 Stunden; 2. Auswässern 24 Stunden; 3. Entwässern in Alkohol je 24 Stunden in 33%igem, 70%igem und absolutem; 4. Alkohol-Xylol 12—24 Stunden; 5. Xylol 3—12 Stunden; 6. Paraffin 1 Stunde; 7. frisches Paraffin 2—5 Stunden (in einem Vakuum-Paraffinöfchen sind für Nr. 6 und 7 nur je 15 Minuten nöthig); 8. Einschmelzung und Erstarrung; 9. Schneiden; 10. Aufkleben der Paraffinschnitte auf dem Objektträger; 11. Entparaffiniren mit Xylol, übertragen in absoluten Alkohol und dann in Wasser.

Vorschrift zur Färbung: 1. Ehrlich's Hämatoxylin oder Mayer's Hämalaun 10—15 Minuten; 2. Auswaschen in fliessendem Wasser ½ Stunde; 3. Eosin (0,5%ige wässerige Lösung) 2—5 Minuten; 4. Abspülen in Wasser; 5. Entwässern in Alkohol; 6. Aufhellen in Nelkenöl oder Xylol; 7. Einlegen in Cedernöl, Terpentin-Kolophonium oder Balsam.

Von diesen Einschlussmitteln ist Cedernöl von Zeiss (Immersionsöl) das beste, weil es die Farben am wenigsten zerstört; das nächstbeste ist Terpentin-Kolophonium (weisses Kolophonium wird in Terpentinöl in einem Brutschrank bei 37° koncentrirt gelöst und dann filtrirt), dieses ist von geringerem Brechungsvermögen und giebt feine Einzelheiten viel klarer, auch konservirt es die Farben besser. Das am wenigsten Gute ist der gewöhnliche Xylolbalsam, welcher durch Alter sauer wird, die Farben schlecht erhält und Krystalle absetzt.

Methode II. Die Fixirung etc. von Methode II ist dieselbe wie in Methode I: der einzige Unterschied besteht in dem Färbungsverfahren.

Vorschrift zur Färbung: 1. Die Schnitte werden mit Ehrlich's Hämatoxylin oder Hämalaun stark überfärbt; 2. Auswaschen in fliessendem Wasser ½ Stunde; 3. in van Gieson'sche Lösung einlegen (koncentrirte wässerige Pikrinsäurelösung 150 Ccm., koncentrirte wässerige Säurefuchsinlösung 3 Ccm.) 2—3 Minuten; 4. Abtrocknen mit Fliesspapier; 5. Sorgfältiges Auswaschen mit einigen Tropfen Alkohol, in welchem einige Krystalle von Pikrinsäure aufgelöst sind; 6. Trocknen und in Xylol aufhellen; 7. Einschluss in Cedernöl oder Terpentin-Kolophonium.

Durch diese Methode werden die Kerne braunröthlich gefärbt, das Protoplasma rosa, das Bindegewebe tiefroth und die rothen Blutkörperchen gelb. Diese Methode ist vor allem sehr geeignet für Gebärmuttergeschwülste, da es die glatten Muskelfasern gelb und die Bindegewebsfasern roth färbt.

Wenn diese Methode in dieser Weise gebraucht wird, so sind die Resultate beständig dieselben; aber wenn die Schnitte mit Alkohol behandelt und mit Anilin oder Nelkenöl aufgehellt werden, kommt die Färbung unregelmässig heraus und die Resultate sind nicht konstant.

II. Untersuchung frischer Präparate.

Es kommt häufig vor, dass man durch Untersuchung frischer Geschwülste eine rasche Diagnose der Natur der Geschwulst stellen will. Bei sehr zellreichen Geschwülsten, wie Karcinom und Sarkom, ist dies häufig von grossem Vortheil. Um dies zu thun, muss ein Abstrichpräparat von einer frisch geschnittenen Oberfläche einer Geschwulst mit einem sehr scharfen Messer gemacht werden, und das Abgestrichene muss auf dem Objektträger mit einem Tropfen irgend einer Farblösung vermischt werden, um die einzelnen Elemente zu differenziren. Die beste Färbung zu diesem Zweck ist eine alte alkalische Lösung von Methylenblau, wie die von Löffler, oder noch besser eine Lösung von Methylenblau, so wie sie Nocht beschreibt für Malariafärbung: Methylenblau 1 Grm., Natr. carbonic. 0,5 Grm., Aq. dest. 100 Ccm.

Die Mischung wird 48 Stunden lang in der Wärme bei 50—60° gehalten und dann filtrirt. Mit dieser Farbe werden die Kerne dunkelviolett und das Protoplasma schwach blau, auf diese Weise wird es möglich, die Eigenschaften der Zellen zu erkennen. Bei Karcinom sind die Zelleinschlüsse zugleich metachromatisch roth gefärbt und man kann dieselben so in frischen Abstrichpräparaten demonstriren — eine grosse Hilfe für die rasche Diagnose von diesen Geschwülsten.

III. Rasche Methode für Schnitte.

Will man schnell ein Schnittpräparat haben, um Gewissheit über die Natur einer Geschwulst zu erhalten, so ist die folgende Methode von Lubarsch für diesen Zweck eine sichere und auch eine einfache. 1. Sehr kleine dünne Stücke der betreffenden Objekte werden für $^1/_2$ Stunde auf Watte in ein Reagirglas gelegt, welches mit absolutem Alkohol gefüllt ist, der nach 15 Minuten gewechselt werden muss; 2. die Stücke werden dann in Anilinöl gelegt und kommen dann für $^1/_2$ Stunde in das Paraffinöfchen, welches eine Temperatur von 55° haben muss; 3. Abtrocknen mit Fliesspapier, dann Einlegen etwa $^1/_2$ Stunde lang in Xylol, welches wenigstens zweimal gewechselt werden muss, jedenfalls so lange bis keine gelbe Farbe mehr abgegeben wird; 4. Einschluss in Paraffin und schneiden; 5. Färben entweder mit Methode I oder II. oder mit einer besonderen Methode, welche unten folgt.

Auf diese Weise kann eine Diagnose in 2—3 Stunden nach der Operation gestellt werden.

IV. Specielle Methoden.

Die folgenden speciellen Methoden umfassen die meisten der speciellen Untersuchungen, welche wünschenswerth und oft nöthig sind, um mikroskopische Untersuchungen von Geschwülsten zu unternehmen.

1. Für Zelleinschlüsse in Karcinomen.

Um Zelleinschlüsse in Karcinomen mit Gewissheit darstellen zu können, ist eine sehr viel feinere Fixirung nöthig als wie die für gewöhnliche histologische Zwecke gebrauchte. Die beste Fixirung hierfür ist Hermann's Mischung: 1%ige Platinchloridlösung 15 Theile, 2%ige Osmiumsäurelösung 4 Theile, Eisessig 1 Theil.

Das Verfahren ist folgendes: 1. Kleine Stücke der Geschwulst werden in Hermann's Mischung für 24 Stunden fixirt; 2. Auswaschen in fliessendem Wasser 24 Stunden; 3. Härten in Alkohol: 33% 24 Stunden, 70% 24 Stunden, absolut. 24 Stunden; 4. Einbetten in Paraffin durch Cedernöl, schneiden

und nach der japanischen Methode aufkleben; 5. Entparaffiniren durch Xylol, übertragen in absoluten Alkohol und dann in Wasser; 6. Behandeln mit der gewöhnlichen, käuflichen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd. bis die schwarze Farbe aus dem Präparat entfernt ist, 15—30 Minuten; 7. Auswaschen; 8. Färben mit HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylin, in folgender Weise: *a)* 4%ige Lösung von Eisenalaun 2 Stunden, *b)* Auswaschen in Wasser, *c)* wässerige Lösung von Hämatoxylin 0,5% ½ Stunde, *d)* Auswaschen in Wasser, *e)* wieder Einlegen in die Eisenalaunlösung, bis das Protoplasma beinahe farblos ist, und die Kerne schwarz. *f)* Auswaschen in fliessendem Wasser 1—2 Stunden; 9. Färben in 1% Lösung von Bordeauxroth (GRÜBLER), bis der Schnitt genügend roth ist, 15—30 Minuten (diese Lösung muss neutral erhalten werden, und wenn dieselbe, wie häufig vorkommt, sauer wird, muss sie mit einem Alkali neutralisirt werden); 10. Auswaschen mit wenig Alkohol für einen Augenblick, Aufhellen in Origanumöl und Einschliessen in Cedernöl oder mit Fliesspapier abtrocknen, oder auch an der Luft trocken werden lassen und dann direkt in Cedernöl einschliessen. Die Zelleinschlüsse sind gelblich- bis kupferroth gefärbt: die Kerne schwarz, das Bindegewebe dunkelroth. Ein ganz ähnliches Resultat erhält man mit Neutralroth (EHRLICH), 1% wässerige Lösung, die in der nämlichen Weise wie Bordeauxroth angewandt wird, doch ist das Resultat besonders bei dickeren Schnitten hier nicht so konstant.

Diese Zelleinschlüsse färben sich ebenfalls mit der VAN GIESON'schen Lösung, wie in der allgemeinen Methode II beschrieben ist, so dass man auch diese anstatt Nr. 9 nehmen kann; aber die oben angegebene Methode giebt solche hervorragende Resultate, dass es unnöthig ist, eine andere zu versuchen.

2. Probeauskratzung aus der Gebärmutter und aus der Scheide.

In diesen Fällen ist zuweilen eine specielle technische Methode nöthig: in allen Fällen muss die Technik sehr sorgfältig ausgeführt werden, so dass die Diagnose von Werth sein kann.

Zuerst ist die Art des Stückes, welches untersucht werden soll, von grosser Wichtigkeit. Auskratzungen aus der Gebärmutter, wenn sie nicht ganz genau untersucht werden, geben zu viel Irrthum Anlass: wenn z. B. die Stücke so orientirt sind, dass die Drüsen schräg geschnitten sind, täuschen sie sehr leicht, so dass womöglich eine Probeexcision gemacht werden sollte, weil bei Auskratzungen eine richtige Orientirung eben unmöglich ist. Die erhaltenen Schnitte können fixirt und behandelt werden, wie in der allgemeinen Methode I oder II angegeben ist; aber es giebt noch eine Methode, welche am sichersten zum Ziele führt bei Geschwülsten aus dieser Gegend, welche aber auch für epitheliale Geschwülste von anderen Theilen angewendet werden kann. Sie beruht auf der Thatsache, die von AMAN zuerst beschrieben war, dass nämlich Kongoroth die normalen Drüsenzellen stark röthlich färbt, während die Krebszellen fast ungefärbt bleiben.

Vorschrift der Färbung. Ausgeschnittene Stücke von der Gebärmutter sind ausgekratzten vorzuziehen; Fixirung entweder in der Fixirungslösung, die als allgemeine Methode I beschrieben ist, oder in Alkohol, wie unter § 3, dann wie oben näher beschrieben verfahren; 2. Färbung der Schnitte in EHRLICH's Hämatoxylin oder MAYER's Hämalaun; 3. Auswaschen; 4. Einlegen in 1% Lösung von Kongoroth, bis das Präparat roth wird — 2 bis 5 Minuten; 5. Kurzes Waschen in Wasser; 6. Kurzes Waschen in Alkohol; 7. Nelkenöl und Xylol, oder besser Xylol allein; 8. Einschluss in Cedernöl oder Terpentin-Kolophonium.

Durch die Verschiedenheit der oben erwähnten Farben ist man im Stande, deutlich die Invasion der atypischen Epithelmassen zu sehen und die Reste des etwa vorhandenen normalen Epithels.

3. Für die Intercellularsubstanz in Sarkomen.

Um die Intercellularsubstanz in den Sarkomen, oder das Bindegewebe in einem Karcinom, zu demonstriren, ist die folgende Methode von MALLORY die beste.

Vorschrift der Färbung. Die Geschwülste werden am besten fixirt auf die in der allgemeinen Methode I beschriebene Weise.

1. Einlegen in eine $1^0/_0$ige Lösung von Phosphormolybdänsäure 2 Minuten; 2. Auswaschen in zweimal gewechseltem Wasser; 3. Färben in folgendem Gemisch: Anilinblau (wasserlöslich, GRÜBLER) 0,5 Grm., Orange G 2 Grm., Oxalsäure 2 Grm., Aq. dest. 100 Ccm. — 20 Minuten; 4. Auswaschen; 5. Entwässern in $95^0/_0$igem Alkohol; 6. Trocknen mit Fliesspapier; 7. Aufhellen in Origanumöl; 8. Entfernen des Origanumöls mit Xylol; 9. Einschluss in Cedernöl oder Terpentin-Kolophonium.

Retikulum und Fibrillen des Bindegewebes sind tiefblau gefärbt: Kerne und Protoplasma gelb.

4. Für Cysteninhalt und retrograde Metamorphosen der Geschwülste.

Die allgemeine Methode II ist die beste, um zu bestimmen, welcher Natur der Inhalt einer Cyste ist, und auch um einige der gewöhnlicheren degenerativen Processe zu unterscheiden.

Das VAN GIESON'sche Gemisch in der beschriebenen Weise gebraucht, färbt Theile, welche hyaline Entartung erlitten haben, dunkelroth und Gallertmetamorphose orangegelb.

Mucin kann am besten mit Thionin gefärbt werden. Das Präparat kann nach der allgemeinen Methode I gehärtet werden oder man fixirt es, indem man es für 2—3 Minuten in kochendes Wasser legt.

Vorschrift der Färbung. 1. Die Schnitte werden in koncentrirte Sublimatlösung gelegt $^1/_2$ Minute; 2. Abspülen in Alkohol: 3. Färben mit Thioninlösung (1 Theil gesättigter wässeriger Lösung und 1 Theil Wasser) 5 Minuten; 4. Abspülen in Alkohol; 5. Aufhellen in Origanumöl; 5. Einschluss in Cedernöl.

Der Schleim färbt sich rothviolett, das übrige Gewebe blau.

Zum Nachweis von fettiger Entartung ist Osmiumsäure die beste Behandlung.

Das Verfahren gelingt am besten, wenn das Stück in HERMANN's Lösung, wie es in der speciellen Methode 1 beschrieben ist, fixirt wurde, Chloroform anstatt Xylol bei der Paraffineinbettung diente, mit Nelkenöl aufgehellt und in Cedernöl eingeschlossen wurde.

Verkäsung erkennt man an dem Mangel einer Struktur und der Unfärbbarkeit. Verkalktes Gewebe wird durch Hämatoxylin sehr tief blau gefärbt.

Plimmer, London.

Getrocknete Pflanzen, Untersuchung, siehe Aufhellung pflanzlicher Gewebe.

Giesonfärbung siehe Hämatoxylin.

Giftdrüsen. Zur mikrotechnischen Bearbeitung der Giftdrüsen der Reptilien, der Hautdrüsen der Amphibien eignen sich alle jene bei den Drüsen beschriebenen Methoden und sehe man dort das Nähere ein.

Litteratur: CALMELS (Arch. de Physiol., Bd. 15, 1883), ENGELMANN (PFLÜGER'S Arch., Bd. 5 1870), HEIDENHAIN (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1891), NICOGLER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 56, 1893), SCHULTZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1890), LINDEMANN (ebenda, Bd. 53, 1898), SEEK (Inaug.-Diss., Dorpat 1891), DRASCH (Arch. Anat., 1894).

Gitterfasern siehe Leber.

Glaskörper siehe Sehorgan.

Glastinte. Versetzt man chinesische Tusche oder Kremserweiss mit Wasserglas, so erhält man ein Gemisch, das sich sehr gut zum Schreiben auf Glas eignet.

Glia siehe Neuroglia.

Glimmer, Marienglas, russisches Glas bildet einen der wesentlichsten Bestandtheile des Granits, Gneises und Glimmerschiefers und tritt an manchen Stellen in grossen Massen auf (Thüringen). Die tafelförmigen Krystalle lassen sich leicht (am besten unter Wasser) in feine Blättchen spalten, welche bei den besten Sorten völlig farblos und durchsichtig sind. Chemisch besteht der Glimmer aus Doppelsilikaten des Kaliums, Natriums, Lithiums und Magnesiums.

In der Mikrotechnik wird der Glimmer vielfach an Stelle von Deckgläsern verwendet. Man bezieht ihn entweder schon gespalten und geschnitten oder kauft Glimmerabfall und schneidet und spaltet sich die Platten selbst. Sehr praktisch ist seine Verwendung zum Aufkleben von Serienschnitten und zu Kurszwecken, da sich die einzelnen Platten bequem zerschneiden lassen.

Globoide siehe Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

Glühlampen siehe Lichtquellen.

Glühlicht, Auer'sches, siehe Lichtquellen, auch Mikrophotographie.

Glukase siehe Enzyme.

Glukogen, Glukose, Glukoside siehe Glykogen, Glykose, Glykoside.

Glutamin als pflanzliches Amid neben Asparagin in Runkelrüben, Kürbiskeimlingen etc., mikrochemisch kaum von ihm zu trennen, ausser etwa durch die Borodin'sche Probe und durch grössere Löslichkeit in Wasser (siehe Asparagin).

Litteratur: E. Schulze (Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. 16, 1883 und Zeit. phys. Chem., Bd. 20, 1894). *Magnus*, Berlin.

Glycerin, ein dreiatomiger Alkohol, $C_3H_5(OH)_3$, wird dargestellt aus thierischen und pflanzlichen Fetten, die zusammengesetzte Aether von Glycerin und Fettsäuren darstellen, durch Spaltung derselben mittels gespannter Wasserdämpfe, besonders bei der Stearinkerzenfabrikation. Das so entstandene Rohglycerin wird eingedampft und durch Destillation gereinigt. Das Glycerin bildet ein dickflüssiges, farb- und geruchloses Liquidum von süssem Geschmack. Bei langsamer Abkühlung auf 0° krystallisirt es in rhombischen Krystallen. Es siedet bei 250° und brennt, auf 150° erhitzt, mit blauer Flamme. Sein Brechungsexponent beträgt bei 20° 1,4561. Mit Wasser und Alkohol mischt es sich in jedem Verhältniss; es vermag manche Körper, besonders längere Zeit mit ihnen erwärmt in grösseren Mengen zu lösen als Wasser, es lösen sich z. B. bei 15,5° in Glycerin: Alaun 40%, Ammoniumkarbonat 20%, Atropin 3%, Bleiacetat 20%, Borsäure 10%, Brechweinstein 5,5%, Gerbsäure 50%, Jod 1,9%, Kaliumbichromat 25%, Kaliumarsenat 50%, Kaliumchlorat 3.5%, Kaliumcyanid 32%, Kupferacetat 10%, Kupfersulfat 30%, Morphinacetat 20%, Natriumbiborat 60%, Natriumbikarbonat 8%, Natriumkarbonat 98%, Natriumchlorat 20%, Oxalsäure 15%, Phosphor 0,2%, Quecksilberchlorid 7,5%, Quecksilbercyanid 27%, Schwefel 0,1%, Strychninnitrat 4%, Veratrin 1%, Zinkchlorid 50%, Zinksulfat 35%. In Aether, Chloroform, Benzol etc. ist es unlöslich. Koncentrirte Schwefelsäure bildet mit Glycerin die Glycerinschwefelsäure, Salpetersäure führt es in Glycerinaldehyd über, Chlor- oder Bromwasserstoffsäure bilden Glycerinchlor- oder Glycerinbromhydrine. Metalloxyde, z. B. Bleioxyd, Kupferoxyd lösen, sich in Glycerin zu einer nach kurzer Zeit ausserordentlich fest werdenden Masse unter Bildung von Metallglyceriden (Glycerinkitt).

In der Mikrotechnik bildet das Glycerin eines der am häufigsten verwendeten Agentien einmal als Zusatz zu Farb- und Fixationslösungen, ferner wegen seiner konservirenden Eigenschaften und seines mittelhohen Brechungsindex als Einschlussmittel.

Glycerinäther und **Glycerinäthermischung.** Auf der Suche nach milderen Entfärbungsmitteln für basische Anilinfarben, als Alkohol und Anilinöl fanden sich bei einer grösseren Versuchsreihe über die verschiedenartigsten Alkohole und Aether (1891—1892) solche im Kreosol[1]), Styron[2]) (pag. 12), Glykol[2]) (pag. 23) und Glycerinäther[2]) (pag. 23 und [3]). Auf Schnitte angewandt, welche in polychromer Methylenblaulösung (Grübler) gefärbt sind, geben sie durch ihre langsame und ungleichmässigere Entfärbung Gelegenheit zur Einzelfärbung verschiedener Gewebselemente, welche auf andere Weise schwierig darstellbar sind, wie: des Granoplasmas der Bindegewebszellen, der Bakterien der Hornschicht, der Mitosen an Alkoholschnitten, der Streptobacillen des weichen Schankers und der Gangrän etc. Von diesen vier milden Entfärbungsmitteln hat seit 1892 der Glycerinäther in Form der bei Grübler und Schuchardt vorräthigen Glycerinäthermischung wegen seiner bequemeren Handhabung die übrigen verdrängt.

Den Glycerinäther kann man als ein Anhydrid des Glycerins betrachten, da sein Molekül 3 Moleküle H_2O weniger enthält als 2 Moleküle Glycerin ($C_6H_{10}O_3 = 2C_3H_8O_3 - 3H_2O$).

Der Glycerinäther wird dargestellt durch trockene Destillation von Glycerin mit 2% Salmiak und findet sich hauptsächlich in den mittleren Fraktionen der Destillation. In reinem Zustande angewandt entfärbt er zu stark und besitzt nicht die für den praktischen Gebrauch erforderliche, dickflüssige Konsistenz. Da ausserdem der Preis des reinen Glycerinäthers ein hoher ist, wird statt desselben gewöhnlich die »Glycerinäthermischung« angewandt, welche nur wenige Procent Glycerinäther enthält. Man stellt dieselbe dar, indem man nach Beendigung der Destillation die mittleren oder selbst alle Fraktionen wieder vereinigt und soviel absoluten Alkohol — etwa ein Drittel des Gewichtes — hinzusetzt, bis sich dieselben mischen und dann ungefähr ebensoviel Glycerin, damit die Konsistenz eine zum Arbeiten bequeme wird.

Die käufliche Glycerinäthermischung wird in unverdünntem Zustande nur selten angewandt, z. B. zur Darstellung von Hornbakterien. Beim gewöhnlichen Gebrauch nach der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung wird sie zweckmässiger Weise auf den 4. Theil mit Wasser verdünnt. Ihre bemerkenswerthesten Eigenschaften bei dieser Entfärbung sind folgende:

Von den gleich stark gefärbten Substanzen: Kernchromatin und Granoplasma wird bei fortgesetzter Entfärbung im Gegensatz zu den sonst gebräuchlichen Entfärbungsmitteln zuerst das Kernchromatin entfärbt.

Die Mastzellen werden durch Glycerinäther derart entfärbt, dass die Mastzellenkörnung vollkommen frei von Methylenblau, rein roth erscheint*, während die Kerne blau bleiben. Alle sonstigen Entfärbungsmittel zeigen die Mastzellengranula in einer Mischfarbe.

Nach Entfärbung mit Glycerinäther müssen die Schnitte besonders gut in Wasser abgespült werden, ehe sie in Alkohol, Oel und Balsam kommen, da im Schnitte verbleibende Reste des Glycerinäthers nachträglich eine völlige Entfärbung herbeiführen.

Bisher als nothwendiges Komplement der Färbung mit polychromer Methylenblaulösung anerkannt, bildet diese Mischung ein allgemein anwendbares Entfärbungsmittel, welches bei milder Wirkung besonders gute Differenzirungen herbeiführt.

* Derartig rein rothe Färbungen der Mastzellengranula sind sonst nur durch Styronentfärbung erhalten worden.

Litteratur: [1]) Unna (Mon. prakt. Derm., Bd. 12, 1891), [2]) derselbe (ebenda, Bd. 13, 1891), [3]) derselbe (ebenda, Bd. 19, 1894). *Unna*, Hamburg.

Glyceringelatine. Um die werthvollen Eigenschaften des Glycerins als Einschlussmittel noch zu erhöhen, hat man vielfach versucht, durch Zusätze von Gelatine, Hausenblase oder Gummi arabicum eine feste Einschlussmasse zu erzielen, die bei schwacher Erwärmung flüssig ist. Von den zahlreichen Vorschriften sei hier nur die von Kaiser angeführt. Man weicht 7 Grm. Gelatine 2 Stunden lang in 42 Grm. dest. Wasser ein, setzt 50 Grm. Glycerin und 1 Grm. Karbolsäure zu, erwärmt unter Umrühren 10—15 Minuten und filtrirt heiss durch angefeuchtete Glaswolle. Unter Umständen kann eine derartige Glyceringelatine als Einschlussmittel ganz gute Dienste leisten, doch wird man meistens mit reinem Glycerin bessere Resultate erzielen.

Glycerinseife, Transparentseife, wird erhalten durch Lösung von gewöhnlicher Seife in der gleichen Gewichtsmenge Glycerin unter Erwärmen.

Flemming hat diese Transparentseife als Einbettungsmittel empfohlen. Man löse die käufliche Seife in warmen Alkohol auf dem Wasserbade und übertrage die mit Glycerin durchtränkten Objekte je nach ihrer Grösse bis zu einer Stunde in sie. Man benutze zunächst 90%igen Alkohol und setze soviel Wasser zu, dass die Masse nach dem Erkalten völlig durchsichtig bleibt. Sie wird nach einigen Tagen vollkommen fest und erlaubt die Anfertigung ziemlich feiner Schnitte. Man schneidet mit trockenem Messer. Die Seife wird aus den Schnitten durch gründliches Waschen mit destill. Wasser entfernt.

Nach Döllken ist die Glycerinseife ein ungeeignetes Einschlussmittel, da die Objekte durch das immer vorhandene freie Alkali stark schrumpfen. Er stellt sich eine Natronseife so her, dass er in kochende 20—30%ige Natronlauge Ricinus- oder Stearinöl so lange einträgt, bis die Masse eben noch alkalisch reagirt. Dann lässt man erkalten und erstarren. Die noch vorhandene Natronlauge wird entfernt durch Auspressen und Dialysiren. Zur Einbettung benutzt man eine 3—5%ige Seifenlösung in destill. Wasser bei 30—40°, der man, um sie durchscheinend zu machen, auf 50 Ccm. je 5 Ccm. Alkohol und Glycerin zusetzt. Die Objekte bleiben in der warmen Lösung 2—3 Tage, dann lässt man offen stehen, eindunsten und erstarren. (Vergl. auch Paraffineinbettung.)

Glychämalaun siehe Hämateïn.

Glykogen. Das Glykogen, ein Polysaccharid, ist in reinem Zustand ein weisses Pulver, das in Wasser eine weiss getrübte Lösung gibt. Durch hydrolytische Spaltung, die auch durch diastatische Enzyme bewirkt wird, geht es in Traubenzucker über.

Das Glykogen spielt im thierischen Haushalt eine bedeutungsvolle, von Claude Bernard zuerst erkannte Rolle, indem es die Form darstellt, in welcher die Kohlenhydrate als unlösliche Reservestoffe aufgespeichert werden. Insbesondere ist es eine Hauptfunktion der Leber, als Magazin für das Glykogen zu dienen. Bei höheren Thieren findet es sich ausserdem in grösserer Menge in den Deckepithelien, im Placentargewebe und in geringeren Mengen in jungen verschiedenartigen Zellen vor.

Der mikroskopische Nachweis des Glykogens beruht auf einer charakteristischen Farbenreaktion mit Jod, deren Nuance vom Weinroth bis Braunviolett schwanken kann. Ganz kleine Mengen von Glykogen sind mikrochemisch nicht sicher nachweisbar, da schwache Reaktionen durch die gleichzeitige Gelbfärbung des Protoplasmas leicht verdeckt werden. Der Nachweis des Glykogens kann am gehärteten und am Trockenpräparat erfolgen. Zur Härtung benutzt man am besten Alkohol und ähnliche Mittel, welche das Glykogen nicht auflösen. Legt man Schnitte, die in Alkohol gehärtet sind,

in eine dünne wässerige Jodjodkaliumlösung, so findet man an vielen Stellen, z. B. Knorpelzellen, tieferen Schichten des Pflasterepithels, schöne Braunfärbung; in anderen Fällen aber, z. B. glykogenreiche Leber, diabetische Entartung der HENLE'schen Schleifen, sieht man, dass sich das in den Schnitten enthaltene Glykogen auflöst und in braunen Zügen in die Jodlösung übertritt.

Um den genannten Uebelstand zu vermeiden, hat sich für den sicheren Nachweis des Glykogens folgende Methode bewährt:

Zur Verwendung kommen Organe, die in absolutem Alkohol gehärtet und in Paraffin oder Celloidin geschnitten sind, ohne mit Wasser in Berührung zu kommen. Die Schnitte werden in eine dünne Jodjodkaliumlösung gebracht, die mit soviel Gummi arabicum versetzt ist, dass sie eine zäh syrupöse Flüssigkeit bildet. Am besten geschieht dies derart, dass man auf einem Objektträger eine grössere Menge Jodgummi aufschichtet, hierauf den Schnitt sich ausbreiten lässt und sodann seine freie, nach oben gewandte Fläche mit einigen Tropfen Jodgummi bedeckt. Nach wenigen Minuten wird der Ueberschuss der Gummilösung entfernt und das Deckglas aufgebreitet. Das Glykogen ist mahagonibraun, die anderen Elemente sind rein hellgelb gefärbt. Die Präparate halten sich, wenigstens in den centralen Theilen, nach meiner Erfahrung länger als zehn Jahre, indem die peripheren Theile beim Eintrocknen eine Grenzschicht bilden, welche die Verdunstung der Jodgummilösung vollkommen aufhebt.

Für den Glykogennachweis im Blute eignet sich besonders folgende Methode: Das Deckglastrockenpräparat wird in einem verschlossenen, Jodkrystalle enthaltenden Gefäss so lange belassen, bis es eine dunkelbraune Färbung angenommen hat und sodann mit Hilfe einer gesättigten Lävuloselösung, die sich vortheilhaft durch einen hohen Brechungsindex auszeichnet, eingebettet. Alle glykogenführenden Zellbestandtheile der weissen Blutkörperchen, sowie die in gleicher Weise ausgezeichneten Zerfallskörperchen zeichnen sich durch eine schöne mahagonibraune Färbung aus. Nach dieser Methode zeigt auch gonorrhoischer Eiter eine Glykogenreaktion der Eiterzellen, wie auch Zellen, die aus Tumoren entstammten, durch dieselbe Nuancirung der betreffenden Zellbestandtheile auffallen.

Die normalen im Blute kreisenden weissen Blutkörperchen sind dagegen nicht jodempfindlich. KAMINER gelang es neuerdings nachzuweisen, dass die besagte Jodreaktion im Kaninchen- und Meerschweinchenkörper durch bestimmte Bakterienkulturen und ihre Toxine hervorgerufen wird; dieses gelingt jedoch nicht durch das Tetanustoxin, wie auch beim Diphtherietoxin diese specifische Toxinwirkung durch hohe Immunisirung behoben werden kann.

Das Glykogen kommt in dem mehr passiven Theil des Zellleibes, im Paraplasma vor und ist sodann entweder bei einem geringen Glykogengehalt der Zelle in derselben diffus vertheilt — kann aber auch unter gewissen Umständen in den paraplasmatischen Vakuolen künstlich in Form von mehr oder weniger scharf umschriebenen Gebilden und Kugeln gleichsam ausgefällt werden, oder aber es kommt schliesslich thatsächlich schon in Kugelform präformirt vor. Ein solches Vorkommen ist einerseits bei manchen niederen Protozoen, andererseits bei der diabetischen Leber bekannt. Nach einigen Beobachtungen zeichnen sich auch die Partien um den Nukleolus gewisser Zellen durch einen Glykogengehalt aus.

Alle die oben besprochenen Schollen und Kugeln bestehen aber nicht aus reinem Glykogen, denn sie müssten sich sodann Reagentien und Lösungsmitteln gegenüber gleichartig verhalten, was jedoch durchaus nicht der Fall ist. So ist das Glykogen der geschichteten Epithelien im Wasser unlöslich, dasjenige der Knorpelzellen ist verhältnissmässig schwer löslich, während das der Leber leicht und schnell vom Wasser aufgenommen wird. Demnach ist

die Annahme wohl berechtigt, dass das Glykogen an eine besondere Trägersubstanz, von der wohl mehrere Unterarten vorkommen, gebunden ist. Welche Funktion diesen Trägersubstanzen zukommt — ob sie gewisse Vorstufen für die Glykogenbildung liefern oder aber überhaupt Generatoren derselben sind —, dies festzustellen muss der künftigen Forschung vorbehalten bleiben. *Ehrlich*, Frankfurt.

Glykogen, $C_6H_{10}O_5$, ist ein normaler Weise in allen embryonalen Organen (mit Ausnahme des Nervensystems), sowie in den meisten Organen des Erwachsenen — hier fehlt es nur konstant in Brustdrüse, Knochen und dem gesammten Nervensystem — vorkommender Körper. In den meisten Organen des Erwachsenen ist es jedoch in so geringer Menge vorhanden, dass es mikrochemisch nicht nachweisbar ist, während in den embryonalen Geweben der mikrochemische Nachweis leicht gelingt. Nur in Leber, Muskeln, den Epithelien der HENLE'schen Schleife der Nieren, dem Knorpel, sowie den geschichteten Plattenepithelien der Haut und Schleimhäute, den Epithelien des Fundus uteri und den Eihäuten, spurweise auch extracellulär im normalen Blute gelingt die mikrochemische Reaktion. — Optisch ist das Glykogen durch seinen starken Glanz und seine Strukturlosigkeit charakterisirt, morphologisch bekommt man es meist in Körner-, Kugel- und Schollenform meist innerhalb des Zellleibes zu sehen, doch kann man sich bei Untersuchung lebensfrischer Zellen davon überzeugen, dass diese Formen erst postmortal entstehen, wenn die noch zähflüssigen Bestandtheile des Zellleibes in Form von Kugeln ausgepresst werden. Ursprünglich ist das Glykogen gleichmässig in der Zelle vertheilt und die durch Jod bewirkte Färbung ist diffus (EHRLICH, LUBARSCH), nur in den granulirten Leukocyten des Eiters erscheint das Glykogen von vornherein körnig, wohl weil es an die Zellgranula gebunden ist (LUBARSCH). Chemisch gilt es als leicht löslich in Wasser, doch ist diese Löslichkeit sehr verschieden und im allgemeinen von der Festigkeit der Verbindung zwischen Glykogen und Glykogenträger abhängig. Oft betrifft auch die grosse Löslichkeit nicht das reine Glykogen, sondern erst das nach Anstellung der Jodreaktion sich bildende Jodglykogen. Leicht löslich ist das Glykogen der Leber, der Niere, des Blutes und der Muskeln, schwer löslich dagegen das der geschichteten Epithelien und des Knorpels. Von dem unter krankhaften Verhältnissen vorkommenden Glykogen ist leicht löslich das Glykogen der Eiterkörperchen, der Knochensarkome, Hodentumoren, Muskelgeschwülste, sowie mancher Nieren- und Schilddrüsengeschwülste, auch der Chorioepitheliome.

Durch Behandlung mit Speichel wird Glykogen unter Umwandlung in Zucker gelöst.

Beim Auftreten des Glykogens unter krankhaften Bedingungen (Glykogeninfiltration und -degeneration) kann man folgende Fälle unterscheiden (LUBARSCH):

1. Im Blute bei Vermehrung des Zucker- und Peptongehaltes extra- und intracellulär, sowie bei zahlreichen mit Hyperleukocytose verbundenen Krankheiten.

2. In weissen Blutkörperchen bei Eiterungen und Entzündungen.
3. In Nierenepithelien bei Diabetes.
4. In echten Neoplasmen: *a)* in solchen, die von normaler Weise Glykogen enthaltenden Zellen ausgehen, *b)* die von glykogenfreien Zellen abstammen.

Zum Nachweis des Glykogens dient in erster Linie die charakteristische Jodreaktion, in zweiter Linie Färbemethoden, die aber an Sicherheit hinter den Jodmethoden zurückstehen. Die Jodreaktion besteht in der Dunkelbraunfärbung des Glykogens durch verdünnte Jodjodkalilösung.

Eine Verwechslung mit Amyloid ist theils durch die morphologischen und Lagerungsverhältnisse — das Glykogen liegt meist innerhalb der Zelle — theils durch die grosse Wasserlöslichkeit, die Veränderung durch Speichel sowie den negativen Ausfall der Jodschwefelsäurereaktion und der Gentianaviolettfärbung auszuschliessen.

Die Vornahme der Reaktion geschieht bei Blut und Eiter an Deckglas- oder Objekttrrägertrockenpräparaten, bei den anderen Geweben an frischem oder gehärtetem Material. Bei den Trockenpräparaten sind alle die für Herstellung guter Blutpräparate nothwendigen Vorsichtsmassregeln anzuwenden (Herstellung möglichst dünner Schichten, Vermeidung von Drücken und Quetschen der Zellen), starke Erhitzung der Präparate ist zu vermeiden, ebenso nachträgliche Härtung der Trockenpräparate in Aetheralkohol. Am vollständigsten tritt die Reaktion ein bei dem Ehrlich'schen oder Barfurth'schen Verfahren, doch ist auch die Langhans'sche Methode zu empfehlen. Von Färbungen kommt nur die Gentianaviolettmethode von Lubarsch in Betracht. Bei Untersuchung frischer Schnitte ist die Ehrlich'sche und Barfurth'sche Methode am meisten zu empfehlen.

Ehrlich's Jodgummimethode.

Man behandelt mit einem Gemisch von starker Lugol'scher Lösung 1 Theil auf 100 Theile dicken Gummischleims und bewahrt die Präparate dann auf. Für Schnitte von gehärteten Objekten nicht zu empfehlen, da sie zu undurchsichtig bleiben.

Barfurth's Jodglycerinmethode.

Färbung und Konservirung in einem Gemisch von 1 Theil Lugol'scher Lösung und 2 Theilen Glycerin. Die Präparate sind durchsichtiger, aber weniger dauerhaft, da das Jod vom Glycerin bald ausgezogen wird.

Langhans'sche Methode.

Sie ist besonders geeignet für Schnitte von gehärtetem Material, aber auch für Deckglastrockenpräparate; dagegen nicht für Schnitte von ungehärteten Objekten.

1. Einwirkenlassen von Lugol'scher Lösung 5—10 Minuten.
2. Entwässern in einem Gemisch von officineller Jodtinktur 1, Alkoh. absolut. 4 Theile.
3. Aufhellen und Aufbewahren in Origanumöl.

Besonders gut werden die Präparate, wenn man nach meinem Vorschlag eine Vorfärbung mit alkoholischem Karmin nach P. Mayer vornimmt. Die Kerne erscheinen roth, das Glykogen braungelb. Die Präparate, die erst nach einigen Tagen die scharfen Unterschiede erkennen lassen, halten sich einige Monate, besonders wenn man zur Verhinderung der Verdunstung des Oels die Deckgläschen mit einem Rahmen von Paraffin und Siegellack versieht. Auch kann man, wenn die Reaktion geschwunden, die ganze Procedur nochmals vornehmen.

Die Glykogenfärbungen.

Färbung von Glykogen kommt nur für Schnitte von gehärtetem Material, allenfalls Trockenpräparate in Betracht. Das Material muss in absolutem Alkohol gehärtet sein. Zwar wird das Glykogen, wenn es wenig wasserlöslich ist, auch in Sublimat, Formol und selbst Müller'scher Flüssigkeit konservirt und auch bei diesen Härtungen sind die Färbungen anwendbar. Da sich aber die Löslichkeit des Glykogens — namentlich bei pathologischen Objekten — niemals mit Sicherheit im voraus beurtheilen lässt, ist die Härtung in absolutem Alkohol unter allen Umständen vorzuziehen. Die Bedeutung der bisher eingeführten Glykogenfärbungen ist im allgemeinen die, dass

1. durch differente Färbung von Kernen und Glykogen letzteres besonders gut hervortritt; 2. durch die völlige Aufhellung der Objekte die Beziehungen des Glykogens zu den einzelnen Zellbestandtheilen viel klarer erkennbar sind; 3. die Präparate sich länger halten, wie die mit Jodreaktion. — Als Nachtheil steht dem gegenüber eine gewisse Unsicherheit der Methoden. Auch handelt es sich nicht um specifische Färbungen etwa in dem Sinne, dass nur Glykogen und nichts anderes nach der betreffenden Methode färbbar sei — solche Methoden giebt es ja auch für andere Stoffe nicht. Man muss deshalb Form und Lagerung mit in Betracht ziehen, ferner auch zur Kontrolle die Jodreaktion und eventuell das Verhalten zum Speichel mit heranziehen. Die besten Resultate liefert die von uns eingeführte Gentianaviolettmethode.

Die Gentianaviolettfärbung nach Lubarsch.

Die in Alkohol gehärteten Objekte müssen in Paraffin eingebettet und die Schnitte nach der japanischen Methode auf den Objektträger aufgeklebt werden.*

1. Vorfärbung mit Mayer'schem Karmin, Differenzirung mit salzsaurem Alkohol, Abspülen mit absolutem Alkohol.
2. Färbung mit starkem Anilinwassergentianaviolett** 1—2 Minuten; eventuell noch kürzer unter leichtem Erwärmen.
3. Ganz kurzes Abspülen mit Wasser.
4. Ganz rasches, wiederholtes Abspülen mit Gram'scher Jodlösung, im ganzen höchstens 5—10 Sekunden.
5. Gründliches Abtrocknen mit Fliesspapier oder Klosetpapier.
6. Entwässern und Differenziren in Anilinöl-Xylol (2:1) oder auch reinem Anilinöl.
7. Gründliches Auswaschen in Xylol. Einbetten in Balsam.

Die Kerne sind roth, das Glykogen dunkelblau bis violett. Die Färbung gelingt auch bei dem leicht löslichen Glykogen der Leber, der Muskeln und der Placenta; nur wird mitunter etwas weniger Glykogen gefärbt als durch Jod; es kommt auch vor, dass die Methode bei schwer löslichem Glykogen, z. B. der Hautepithelien, mitunter nicht alles Glykogen färbt; doch sind das nur Ausnahmen. Es ist gut, die fertigen Präparate zunächst etwa 1—2 Tage dem Tageslicht auszusetzen, weil dadurch die Farbengegensätze schärfer hervortreten, dann aber an einem vor Licht geschützten Orte aufzubewahren. Die Präparate halten sich in der Regel $^3/_4$—1 Jahr unverändert; man kann, wenn sie ausgebleicht sind, die Gentianaviolettfärbung wiederholen. Die Behauptung A. Czerny's, dass der gefärbte Körper nicht Glykogen, sondern Hyalin sei, ist gänzlich unrichtig, wie nicht nur durch den Vergleich mit Jodpräparaten, sondern vor allem durch die nachträgliche Lösung der blaugefärbten Körner und Kugeln durch Speichel bewiesen ist.

Die Jodhämatoxylinfärbungen nach Lubarsch.

Es handelt sich hier eigentlich nicht um eine Färbung des Glykogens, sondern mehr um eine Kombination der Jodreaktion mit Hämatoxylinfärbung. Auch hier sind nur auf Objektträger aufgeklebte Paraffinschnitte gut zu verwenden.

---

* An und für sich wären auch Celloidinschnitte brauchbar, aber gerade bei ihnen ist es viel schwerer, die einzelnen Proceduren so rasch vorzunehmen wie nöthig. Jedenfalls sind manche Misserfolge anderer Autoren darauf zurückzuführen, dass nicht Paraffinschnitte benutzt wurden.

** Die Anilinwassergentianaviolettlösung stellt man aus 2 Stammlösungen her, die lange haltbar sind. Lösung 1: 33 Ccm. absol. Alkohols + 9 Ccm. Anilinöl + Gentianaviolettpulver im Ueberschuss. Lösung 2: Koncentrirte wässerige Gentianaviolettlösung. Zum Gebrauche mischt man 3 Theile Lösung 1 mit 17 Theilen Lösung 2.

1. Färbung mit Jodhämatoxylin (alte DELAFIELD'sche Hämatoxylinstammlösung 10,0, GRAM'sche Lösung 10,0, Aq. dest. 5,0; das Ganze zu filtriren und vor Tageslicht zu schützen) ca. 5 Minuten.

2. Direktes Abspülen mit absolutem Alkohol.

3. Gründliches Abtrocknen mit Seiden- oder Klosetpapier, Aufhellen in Xylol, Einbetten in Kanadabalsam.

4. Man lässt die Präparate 1—2 Tage bei Tageslicht liegen.

Die Kerne sind deutlich blauroth bis graublau gefärbt; das Glykogen erscheint gelbbraun. Nicht selten gelingt die Doppelfärbung nicht gut; dann empfiehlt es sich, nach der Hämatoxylinfärbung noch LUGOL'sche Lösung 5—20 Sekunden einwirken zu lassen. Ein Nachtheil der Methode besteht darin, dass bei leicht löslichem Glykogen seine Form in den Zellen verändert wird, so dass es mehr diffus die Zelle ausfüllt und nicht die körnige Struktur darbietet. Auch kann die Methode bei ganz leicht löslichem Glykogen ganz versagen. Für solche Fälle ist eine Färbung mit alkoholischer Lösung: koncentr. alkohol. Jodlösung 8,0 Ccm., DELAFIELD'sche Stammlösung 4,0 Ccm., Aq. dest. 3,0 (Anwendung wie bei der wässerigen Lösung) vorzuziehen. Nur ist die Kernfärbung hierbei oft keine sehr scharfe, so dass man mit MAYER'schem Karmin vorfärben kann. Doch kann auch diese Methode sowohl bei leicht, wie bei schwer löslichem Glykogen ganz im Stich lassen. Stets versagen beide Jodhämatoxylinmethoden bei den hypernepbroiden Neubildungen der Niere und Nebenniere.

Die Karminfärbung nach BEST.

Man braucht dazu folgende Lösungen:

Lösung *A*: Karmin 0,5 Grm., Amm. chlorat. 1,0 Grm., Lith. carbon. 0,2 Grm., Liq. Amm. caust. 10,0 Ccm., Aq. dest. 50,0 Ccm. Gut durchmischen, nach 24 Stunden filtriren.

Lösung *B*: Liq. ammon. caust. 1 Theil, Alkoh. absolut. 2 Theile.

Zur Färbung mischt man von einer mindestens 2 Tage und nicht mehr als 7 Tage (am besten 3—4 Tage) alten Lösung *A* 2 Theile zu 8 Theilen von Lösung *B*. Die Mischung muss stets frisch bereitet und gleich benutzt werden, weil sie durch Ausfällung von Karmin rasch an Färbekraft verliert.

1. Man färbt zunächst vor mit Hämatoxylin (am besten 8—14 Tage altes DELAFIELD'sches). Abspülen mit Wasser.

2. Färbung mit der Karminmischung 15—30 Minuten.

3. Gründliches Entfärben in mehrfach gewechselter Lösung *B* $^1/_4$ Std. und mehr.

4. Auswaschen in $70^0/_0$igem Alkohol. Entwässern in Alkohol absolut.. Xylol oder Oel, Balsam.

Die Kerne sind blau, das Glykogen roth. BEST schreibt Celloidinschnitte vor, doch geht die Methode ebenso gut, vielleicht besser, auch an Paraffinschnitten. Die Färbung ist, was die Kontrastwirkung anbetrifft, sehr schön; doch leistet die Methode sehr viel weniger als meine Färbungen, weil sie nur für das schwer lösliche Glykogen anwendbar ist wegen des starken Wassergehalts der Flüssigkeiten; so misslingt die Färbung bei Hoden- und Hypernephroidentumoren vollkommen, in der Placenta, Leber und Muskulatur fast ganz. Bei dem Glykogen des Knorpels, der geschichteten Epithelien und manchen Augengeschwülsten giebt sie aber sehr vollständige und schöne Resultate.

Ganz ausgezeichnete Resultate erhält man nach einer inzwischen vorgenommenen Modifikation dieses Verfahrens, dessen Veröffentlichung Herr Dr. BEST mir freundlichst gestattet hat.

Man benutzt folgende Lösung: Karmin 1,0, Ammon. chlorat. 2,0, Lith. carbonic. 0,5 werden mit Aq. dest. 50,0 gekocht (1mal aufkochen genügt). Nach dem Erkalten Zusatz von Liq. ammonii caust. 20,0. Im Dunkeln aufbewahrt bewahrt die Lösung ihr Färbevermögen, das sie vom 2. bis 3. Tage der Herstellung an gewinnt, einige Wochen. Die Färbung geschieht folgendermassen: 1. Vorfärbung mit Böhmer'schem oder Delafield'schem Hämatoxylin (intensive Färbung wünschenswerth). 2. Färbung 1 Stunde in frisch hergestellter Mischung von obiger Karminlösung 2 Theile (die Lösung wird kurz vor Herstellung der Mischung filtrirt), Liq. ammonii caust. 3 Theile, Methylalkohol 6 Theile. Die Mischung, die nicht filtrirt werden darf, ist immer frisch herzustellen. 3. Entfärben in mehrfach zu erneuernder Mischung von Methylalkohol 2 Theile, Alkoh. absol. 4 Theile, Aq. dest. 5 Theile oder Liq. ammonii caust. 1,0 Theile, Alkoh. absol. 2 Theile. Die Entfärbung dauert 10—20 Minuten. 4. Abspülen mit 80%igem Alkohol Entwässern, Aufhellen etc. Die Methode ist nur für Celloidinschnitte souverän und lässt bei Paraffinschnitten öfters im Stich. An Celloidinschnitten übertrifft sie aber, wie Präparate von Best und eigene Untersuchungen mir gezeigt, alle übrigen Methoden bei weitem. Sie ist durchaus sicher und zuverlässig und deckt auch die geringsten Mengen von Glykogen auf; selbst das auch mit der Jodmethode oft schwer nachweisbare Glykogen der weissen Blutkörperchen wird aufs deutlichste gefärbt. Die Methode bildet somit eine grosse Bereicherung unserer histologischen Technik.

Litteratur: P. Ehrlich (Ueber das Vorkommen von Glykogen, Zeit. f. klin. Med., Bd. 6, 1883), Lubarsch (Artikel Technik in den Ergebnissen der allgem. Pathol., Jahrg. 1, Abth. 2, 1895), Barforth (Vergleichende hystochemische Untersuchungen über Glykogen, Arch. f. mikr. Anat., Bd. 25), Langhans (Ueber das Vorkommen von Glykogen, Virch. Arch., Bd. 120, 1891), Lubarsch (Histogenese der von versprengten Nebennierenkeimen abstammenden Nierengeschwülste, Virch. Arch., Bd. 135, 1894), A. Czerny (Verhandl. d. Congresses f. innere Med. 1899), Best (Verhandl. d. ital. pathol. Gesellsch. 1901). *Lubarsch*, Posen.

Glykogen $n[6(C_6H_{10}O_5) + H_2O]$ tritt im Pflanzenreich hauptsächlich als Reservestoff in Pilzen weitverbreitet auf (in den Schlauchzellen vieler Hutpilze, bei der Hefe und zumal charakteristisch für das Epiplasma bei der Sporenbildung im Askus der Askomyceten), ebenso auch in den Cyanophycäen. Charakteristisch ist die rothbraune Färbung mit Jodlösung, die beim Erwärmen etwa auf 60° verschwindet (im Gegensatz zu den Alkaloiden, siehe diese) respektive schwächer wird. Dies wird am sichersten daran zu erkennen sein, ob beim Wiedererkalten der in destillirtes Wasser übertragenen tingirten Objekte gegen weisses Papier gehalten eine Dunklerfärbung eintritt. Die Reaktion ist durch die Anwesenheit einer Reihe von Stoffen, zumal Salzen, sehr beeinflussbar, auch scheinen die verschiedenen Farbentöne verschiedene Modifikationen des Glykogens anzuzeigen, wie sie ebenso von der Koncentration des Jods bedingt werden. Um vergleichbare Reaktionen zu bekommen, wird die Anwendung folgender Lösung empfohlen: Jod 0,1 Grm., Jodkalium 0,3 Grm., Aqua dest. 45 Grm.

Litteratur: Errera (Bot. Zeit., 1886), Clautriau (Mém. Ac. roy. Belge, Bd. 53, 1895) *Magnus*, Berlin.

Glykole sind zweiwerthige Alkohole von der allgemeinen Formel $C_nH_{2n}(OH)_2$. Es sind dicke, farblose Flüssigkeiten von süsslichem Geschmack, die in Wasser und Alkohol leicht, in Aether schwer löslich sind.

In der mikroskopischen Technik sind Aethylen- und Propylenglykol von Unna angewandt worden. Unna entfärbt zur Darstellung der Mikroorganismen im Horngewebe mit Borax-Methylenblau (Borax, Methylenblau aa. 1,0, Aq. dest. 100,0) vorgefärbte Schnitt- oder Druckpräparate mit Glykol nach vorherigem Abspülen in Wasser, und zwar braucht die Entfärbung für erstere 2—5, für letztere 5 Minuten. Ferner verwendet Unna Glykol zur Differenzirung aller Zellen und Intercellularsubstanzen nebst Hervorhebung

der Plasmazellen; er färbt mit einer auf 100,0 eingekochten, aus 1,0 Methylenblau, 1,0 Kali carbonicum, 100,0 Aqua destillata, 20,0 Spiritus bestehenden Farblösung (s. auch Glycerinäther).

Litteratur: Unna (Mon. prakt. Dermat., Bd. 13, 1891), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891).

Mosse, Berlin.

Glykose siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Glykoside sind Verbindungen in Pflanzen von komplexem Charakter, die nur die gemeinsame Eigenschaft besitzen, unter der Einwirkung von Mineralsäuren, Alkalien und mehr oder weniger specifischen Enzymen (s. d.) in Zucker (meist Glukose) und andere Verbindungen zerlegt zu werden, von denen wenigstens eine der aromatischen Reihe scheint angehören zu müssen. Zu ihrem mikrochemischen Nachweis dient oft ihre Reduktion Fehling'scher Lösung (s. Zucker in Pflanzenzellen), die entweder direkt oder nach Erwärmung mit verdünnter Schwefelsäure eintritt. Sonst werden sie vielfach durch ihre Spaltungsprodukte nachgewiesen: das Amygdalin (in bitteren Mandeln und Blättern des Kirschlorbeers) durch die Blausäure (s. Enzyme, Emulsin), das Sinigrin (myronsaures Kali) der Kruciferen durch Allylsenföl (mit Alkannatinktur s. Oele, pflanzliche; das fette Oel wird durch Aether ausgezogen, das Enzym-Myrosin zugesetzt), das Koniferin (s. Zellenmembrane, pflanzliche), durch das Vanilin, die Gerbsäure durch Gallussäure (s. Gerbstoff in Pflanzen), das Indikan durch Indigo. Indikan wird beim Absterben der Zellen in Indigblau verwandelt.

Werden junge Blätter von Indigopflanzen, z. B. von Isatis, in festgeschlossenem Gefäss Alkohol- oder Chloroformdämpfen 24 Stunden lang ausgesetzt, so können als Hauptsitz des Indikans, respektive Indigos nach Ausziehen des Chlorophyllfarbstoffs im Alkohol die Chlorophyllkörner festgestellt werden (Molisch). Für Digitalis, Frangulin, Hespidin, Krappfarbstoff, Salicin, Saponin, Solanin, Phloridzin etc. existiren Specialfarbenreaktionen, hauptsächlich mit Kalilauge und Schwefelsäure, ohne sicherlich eindeutig zu sein (Zimmermann).

Litteratur: Molisch (Ber. deutsch. bot. Ges., Bd. 17, 1899), Guignard (Compt. rend., Bd. 110, 1890, und Bd. 111, 1890), Zimmermann (Bot. Mikrot., Tübingen 1892).

Magnus, Berlin.

Goldgelb, Syn. für Chrosoin (Elberfeld).

Goldmethoden. Die Goldmethoden sind den wichtigsten Forschungsmitteln in der Histologie beizuzählen. Diese Methoden lassen sich sogar in gewissen Fällen durch andere nicht vertreten.

Die Art der Färbung mit Goldsalzen gehört in erster Linie zu den sogenannten Imprägnationen. Es giebt jedoch Methoden, in welchen das Gold ein unvergleichliches Mittel für echte Tinktion bildet.

Die Goldimprägnation ist in der Regel eine positive Imprägnation; es färben sich nämlich die Zellen und Fasern, die Intercellularsubstanzen hingegen werden gar nicht oder nur schwach gefärbt.

Zur Färbung mit Gold werden fast ausschliesslich das Goldchlorid und seine Salze: Goldchloridnatrium und Goldchloridkalium verwendet.

Das Goldchlorid (Chlorgold, Goldchlorür, $AuCl_3$, Aurum chloratum) ist eine rothbraune, krystallinische, hygroskopische Masse. Wir erhalten es auch gewöhnlich in Verbindung mit zwei Theilen Wasser ($AuCl_3 + 2 H_2O$), welches dann auch Aurum chloratum fuscum genannt wird.

Das unter dem Namen Goldchlorid (Aurum chloratum) im Handel befindliche Präparat enthält gewöhnlich neben Wasser auch Salzsäure, es stellt sich demnach als Goldchlorid-Chlorwasserstoff ($AuCl_3 + HCl + 4 H_2O$, Aurum chloratum acidum s. Aur. chloratum chlorhydricum s. flavum) dar.

Diese letztere Verbindung erhält man durch Auflösen von Gold in Königswasser und Eindampfen der Lösung. Sie tritt in gelben tafel- resp.

nadelförmigen Krystallen auf, welche an der Luft leicht zerfliessen (deshalb ist der Goldchlorid-Chlorwasserstoff in wohlverschlossenen Gefässen aufzubewahren) und in Wasser, Alkohol, Aether sich leicht lösen. Die Lösung zeigt eine saure Reaktion, besitzt gelbe Farbe und herben, metallischen Geschmack.

Reines Goldchlorid ($AuCl_3$) enthält 64,86% Gold. Goldchlorid ($AuCl_3 + + 2 H_2O$) etwa 53% und Goldchlorid Chlorwasserstoff ($AuCl_3 + HCl + 4 H_2O$) blos 47,76% Gold.

Goldchloridkalium und Goldchloridnatrium (besser Goldchlorid-Chlorkalium und Goldchlorid-Chlornatrium) sind Doppelsalze, welche man erhält, wenn man reines Goldchlorid oder reinen Goldchlorid-Chlorwasserstoff mit den betreffenden Chloriden in äquivalenten Mengen zusammenbringt und die Lösung beider Salze zur Krystallisation eindampft.

Goldchlorid-Chlornatrium ($AuCl_3 + NaCl + 2 H_2O$, Auronatrium chloratum crystallisatum) bildet orangegelbe, rhombische tafel- oder säulenförmige Krystalle, welche an der Luft vollkommen beständig sind. Dieselben sind in Wasser (1:1) und in Alkohol leicht löslich. Die Lösung reagirt schwach sauer. Der Goldgehalt beträgt ungefähr 49,44%.

Das officinelle Goldchlorid-Chlornatrium (Auronatrium chloratum officinale, Pharm. Germ. Ed. III.) stellt ein Gemenge von Goldchlorid-Chlornatrium mit Kochsalz dar, ist deshalb eine an Gold ärmere Verbindung, denn sie enthält 61,93 Theile Goldchlorid-Chlornatrium und 38,07 Theile beigemengten Chlornatriums. Das officinelle Goldchlorid-Chlornatrium enthält demnach bei 30% Gold.

Das officinelle Präparat unterscheidet sich von der obigen reinen Verbindung dadurch, dass seine Krystalle beim Liegen an der Luft allmählich Feuchtigkeit anziehen.

Das Goldchlorid-Chlorkalium ($AuCl_3 + KCl$ oder $KAuCl_4$) tritt theils in hellgelben, nadelförmigen Krystallen, wenn es aus stark saurer Lösung krystallisirt, theils in gelben, durchsichtigen, rhombischen Tafeln auf, wenn man sie aus der neutralen oder schwach sauren Lösung erhält.

Das Goldchlorid und dessen Salze werden in Verbindung mit organischen Substanzen durch Sonnenlicht reducirt. was verschiedene Agentien erleichtern. Zu solchen reducirenden chemischen Agentien gehören: Wasserstoffhyperoxyd, welches augenblicklich die Reduktion bewirkt, verschiedene organische Säuren, arsenige, phosphorige, salpetrige und schweflige Säure. Salzsäure und Chromsäure, Natrium und Kalium causticum, Eisenvitriol, Phosphor, Eisen, Kupfer und andere Metalle. Von diesen vielen reducirenden Agentien werden in der mikroskopischen Technik vor allem Lösungen von Ameisensäure, Citronensäure, Essigsäure, Weinsäure und Salzsäure verwendet.

Damit die Reduktion erfolge, ist es nicht nothwendig, dass beide Faktoren, d. i. das Sonnenlicht und diese reducirende Substanzen einwirken. Sowohl das Sonnenlicht allein, als auch die erwähnten Agentien sind imstande, die Reduktion hervorzurufen.

Das Sonnenlicht allein bewirkt jedoch keine Reduktion der reinen Goldlösungen, deshalb ist auch das übliche Aufbewahren derselben im Dunklen unnöthig. Einige Autoren empfehlen sogar zum Zwecke des besseren Gelingens der Färbung, die Goldlösungen in weissen Flaschen direkt dem Sonnenlicht auszusetzen (Dr. Lindsay Johnson, Apáthy). Die Gefässe, in welchen die Goldlösungen aufbewahrt werden, müssen jedoch dicht verschlossen sein, damit nicht irgend ein organischer Stoff (Staub) in das Gefäss gelangt, was einen Niederschlag von metallischem Gold bewirken würde.

Gewebssubstanz bildet mit Goldsalzen eine Verbindung, aus welcher sich durch Reduktion das Gold in Form eines äusserst feinen, doch mikroskopisch nachweisbaren Niederschlags sich ausscheidet, indem es gleichzeitig dem von Goldchlorid durchtränkten Gegenstande eine dunkel purpurne

Färbung, oft mit einer violetten Nuance verleiht. Dieser Niederschlag ist in Cyankalium löslich. In Anbetracht dessen, dass verschiedene Gewebselemente zu den Goldverbindungen eine verschiedene Verwandtschaft zeigen und dass dieselben mit einer verschiedenen Geneigtheit mit Gold sich verbinden, erlangt man an vergoldeten Präparaten eine Differenzirung der Gewebselemente. Eine specielle Elektivität zeigen das Goldchlorid und seine Salze für den Achsencylinder der Nervenfaser, deshalb bildet auch das Gold für das Nervengewebe, sowohl des peripherischen, als auch centralen Systems ein ungemein werthvolles, ja sogar unumgängliches Forschungsmittel. Ueberdies findet das Gold auch bei der Untersuchung des Muskel- und Bindegewebes Anwendung.

Allzu starke Mitfärbung anderer Gewebstheile lässt sich nachträglich durch Behandlung mit einer $^1/_4$—$^1/_2$%igen Cyankaliumlösung (Cybulski) mildern.

Redding beseitigt die Ueberfärbung mittels einer schwachen Lösung von rothem Blutlaugensalz.

Die Goldmethoden gehören zu den am meisten launischen in der mikroskopischen Technik; bei ihrer Anwendung ist das Resultat immer ungewiss. Es gelingt oft nicht die an einem gutgefärbten Goldpräparate sichtbaren Einzelheiten auch auf zehn nachfolgenden Imprägnationen zu erhalten; einige derselben gelingen gar nicht, andere geben wegen der gleichzeitig entstehenden Niederschläge sehr unklare (verschleierte) Bilder, an anderen endlich kommen die feinsten Einzelheiten des Baues nicht zum Vorschein. Bei einem Goldpräparate kann man demnach niemals mit aller Gewissheit behaupten, dass in demselben alle Einzelheiten aufgetreten sind und dass gewisse Einzelheiten, welche ein scheinbar gelungenes Präparat nicht wiedergegeben hat, auch in der Wirklichkeit nicht bestehen.

Wenn wir einerseits zu Ungunsten der Goldmethoden ihre Unzuverlässigkeit hervorgehoben haben, müssen wir andererseits anerkennen, dass sie manchmal Details aufdecken, welche mittels anderer Methoden nicht zu erhalten sind.

Das Gelingen der Vergoldung ist offenbar von gewissen Bedingungen abhängig, welche man bisher genau festzustellen nicht imstande war. Als Folge der Launenhaftigkeit der Vergoldungsmethoden muss das Bestehen einer grossen Menge ihrer Modifikationen angesehen werden.

Die Goldmethoden haben noch das Unangenehme, dass die Präparate in Bezug auf Haltbarkeit oft viel zu wünschen übrig lassen. Die Ursache davon ist wieder nicht genau bekannt. Wahrscheinlich ist hier die Genauigkeit der Arbeit, die vollständige Beendigung der Reduktion von grösster Bedeutung. Vielleicht wirkt hier auch das vorangehende Sonnen der Goldlösungen (Johnson) günstig ein. In gewissen Fällen übertrifft jedoch die Goldtinktion an Haltbarkeit die meisten anderen Färbungen. (Der Autor selbst ist im Besitze solcher vor 13 Jahren gemachten Imprägnirungen, welche bisher ganz unverändert geblieben sind.)

Der Beschreibung der einzelnen Goldmethoden und ihrer Modifikationen wollen wir einige Bemerkungen in Betreff des Untersuchungsmaterials und allgemeine Massregeln, welche beim Vergolden zu beobachten sind, vorausschicken.

Die Goldmethoden werden entweder an ganz frischen oder wenigstens nicht auf andere Art vorbehandelten Geweben ausgeübt, sei es an einem mit organischen Säuren behandelten Material (Vorvergoldung, Apáthy) oder schliesslich an fixirten und gehärteten Geweben (Nachvergoldung, Apáthy).

Was die Beschaffenheit des für Vorvergoldung anzuwendenden Gewebes betrifft, ist es nicht unumgänglich nöthig, dass es ganz frisch sei, denn nach Drasch ist das Material, welches mehrere Stunden an einem kühlen Orte gelegen hat, in manchen Fällen vorzuziehen.

Nicht jedes Untersuchungsmaterial stellt sich für das Gelingen des Vergoldens gleich günstig dar. Einige Wirbellose, z. B. Lumbricus und Hirudineen (APÁTHY), liefern das am meisten geeignete Material, sodann folgen die Reptilien (z. B. Pseudopus Pallasii), hierauf die Säuger, Amphibien, schliesslich die Vögel und Fische.

Nach KÜHNE's Erfahrungen könnte man, wenn man mit den günstigsten Objekten beginnt (wenigstens für motorische Nervenendigungen), folgende Reihe zusammenstellen: Eidechsen, Schlangen, Kaninchen, Katze, Maus, Ratte, Hund, Frosch, Meerschweinchen, Igel, Schildkröten, Salamander, Tritonen, Proteus, Kröte, Unke, Vögel; die ungünstigsten Resultate liefern Knochenfische und manche Wirbellose.

Die zum Vergolden einzulegenden Stücke dürfen nicht sehr dick sein, damit die Goldchloridlösung leicht eindringt und vor allem, damit das Objekt hinreichend durchsichtig verbleibt, was namentlich in den Fällen von Bedeutung ist, wenn dasselbe im ganzen untersucht werden soll. Das Goldchlorid koagulirt nämlich das Gewebe, wodurch letzteres die Durchsichtigkeit, welche es während des Lebens besass, verliert.

Was die Koncentration der in der mikroskopischen Technik gebrauchten Lösungen betrifft, bedienten sich verschiedene Autoren verschiedener Verdünnungen von 0,005% bis 1%.

Nach Ansicht mancher Autoren liefert das Aurum chloratum flavum (APÁTHY) und Goldchloridkalium (HOYER) die am meisten zufriedenstellenden Resultate, und dies wahrscheinlich aus dem Grunde, weil dasselbe im Handel die geringsten Schwankungen in seiner Zusammensetzung aufweist und dessen Lösungen weniger veränderlich und dauerhafter sind.

Als allgemeiner Grundsatz hat hier zu gelten, dass die Quantität der Lösung das Volum des Objektes mehr weniger um das Zehnfache übertreffen soll.

Die Dauer der Einwirkung der Goldlösungen auf die Objekte ist in den einzelnen Methoden sehr verschieden. Jedenfalls muss das Eintauchen im Dunkeln geschehen. Die Objekte, welche in die Goldlösung einzutauchen sind, müssen vor dem Einlegen wegen der stark kontrahirenden Wirkung dieser letzteren gespannt werden. Lange Objekte sind an ein Glasstäbchen zu binden, Häute dagegen müssen über einem Rahmen aus weichem Holze oder Kork ausgespannt und mit Kaktus- oder Igelstacheln befestigt werden.

Wie bereits erwähnt, werden die goldgetränkten Stücke gewöhnlich in schwachen Lösungen organischer wässeriger Säuren dem Sonnenlichte ausgesetzt. An erster Stelle steht die Ameisensäure. APÁTHY macht darauf aufmerksam, dass er mit einer Lösung der koncentrirtesten krystallisirbaren Ameisensäure (specifisches Gewicht 1,223) die besten Resultate erreicht hat. Die Anwendung von Säuren hat hier gleichzeitig mehrere Aufgaben zu erfüllen: sie soll auf den Fortgang der Reduktion günstig einwirken und verhindern, dass das Wasser infolge der Löslichkeit des alkalischen Glases alkalisch werde, was die sofortige Reduktion des Goldsalzes zu pulverigem Golde zur Folge hätte (APÁTHY); gleichzeitig hat sie die Aufhellung des Objektes zu bewirken. Diese Flüssigkeit ist in einer grossen Menge zu gebrauchen.

Wenn die Reduktion im Tageslicht vorgenommen wird, ist es von Wichtigkeit, dass die Lichtstrahlen auf das in dem sauren Wasser befindliche Objekt womöglich von allen Seiten einwirken. Zu diesem Zwecke ist es am vortheilhaftesten, die Glasdose, in welcher sich das Objekt befindet, auf ein zweites ähnliches, mit dem Boden nach oben gewendetes Gefäss zu stellen, indem man sich hiebei weissen Papiers oder einer Spiegelplatte als Unterlage bedient. Hiebei muss dafür gesorgt werden, dass die direkten Sonnenstrahlen eine nachtheilige Temperaturerhöhung des Wassers über 20° C. nicht bewirken (APÁTHY).

Es ist besonders zu beachten, dass man während der Arbeit metallische Instrumente nach Thunlichkeit vermeidet und dieselben durch Glasstäbchen und Glasnadeln ersetzt.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen wollen wir die einzelnen Methoden und deren Modifikationen in chronologischer Ordnung besprechen. Die wichtigeren Methoden werden wir ausführlicher beschreiben, andere blos kurz berühren.

Die Einführung der Goldsalze in die mikroskopische Technik ist COHNHEIM's Verdienst (1866).

COHNHEIM [1]) empfiehlt zur Färbung der sensiblen Nerven in der Hornhaut kleine Stückchen frischer Hornhaut in eine $^1/_2\,^0/_0$ige Goldchloridlösung einzulegen, der ein wenig verdünnte Essigsäure zugesetzt ist, bis dieselben eine deutlich strohgelbe Farbe annehmen, was für die Froschcornea 15—20 Minuten, für die des Kaninchens circa 1 Stunde erfordert. Dann werden die Stückchen in destillirtem Wasser abgespült und für 2—3 Tage in mit etwas Essigsäure angesäuertes Wasser eingelegt, bis das Gold reducirt ist. Das Sonnenlicht beschleunigt den Process der Reduktion, so dass manchmal schon 6—8 Stunden ausreichen können. Die Stücke können sodann in angesäuertem Glycerin oder Balsam eingeschlossen werden.

Solche Präparate zeigten intensiv gefärbte Nervenfasern, sowohl deren Markscheide, als auch Achsencylinder, überdies traten die Hornhautzellen sammt ihren Ausläufern sehr schön auf, wobei deren Kerne sich schwächer färbten, als das Protoplasma.

ARNOLD [2]) geht nachstehends vor, um das Verhalten der feineren Spiralfasern der sympathischen Ganglienzellen darzustellen. Er löst in $1^0/_0$iger Essigsäure 0,02—0,05 $^0/_0$ Goldchloridkalium auf und lässt das Präparat für 3—4 Stunden in dieser Mischung, bis die ersten Spuren violetter Färbung eintreten. Sodann überträgt er es in $1^0/_0$ige Essigsäure, bis es ordentlich gefärbt ist, was gewöhnlich 3—5 Tage dauert. Sodann wird das zerzupfte Präparat noch in angesäuertem Glycerin auf einem Objektträger und einer weissen Unterlage dem Lichte ausgesetzt.

COURVOISIER [3]) setzt zuerst ein etwas zerzupftes Ganglion der Wirkung einer $0{,}2^0/_0$igen Essigsäure durch $^1/_2$—1 Tag aus, dann zerzupft er es weiter auf einem Objektträger und setzt das Präparat nach Zusatz von $0{,}1^0/_0$iger Goldchloridlösung dem Lichte aus. Das Präparat muss natürlich vor Verdunstung der Lösung, sei es durch beständige Erneuerung derselben, sei es durch Benützung einer feuchten Kammer, bewahrt werden.

BASTIAN [4]) (1868) säuert eine $0{,}05^0/_0$ige Goldchloridlösung mit Salzsäure an (1 Tropfen auf je 75 Grm.) und bedient sich zur Reduktion einer Mischung von gleichen Theilen Alkohol und Ameisensäure. Die Wirkung kann durch Wärme beschleunigt werden.

NATHUSIUS [5]) gebraucht sehr schwache Lösungen von Chlorgold (0,005 auf 100 Grm. Wasser) und reducirt die Schnitte mit einer Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul.

JOSEPH [6]) bedient sich zur Darstellung der Knochenzellen folgender Methode: Die Schädelknochen von Tritonen, von welchen das anhaftende Gewebe abgeschabt wird, bleiben 1—$1^1/_2$ Stunden in einer $1^0/_0$igen Chlorgoldlösung und kommen dann behufs Reduktion in mit einigen Tropfen Essigsäure versetztes Wasser. Nach 24—36 Stunden werden feine Schnitte mit dem Rasirmesser angefertigt und in Glycerin untersucht.

HEITZMANN [6a]) bedient sich bei ähnlichen Untersuchungen derselben Methode.

GERLACH [7]) erhält mittels Vergoldung ausgezeichnete Bilder des Verlaufes der feinen Nervenfibrillen.

Die Schnitte, welche von einem in 1—2%iger Lösung von doppelchromsaurem Ammoniak während 15—20 Tagen erhärteten Mark herrühren müssen, werden 10—12 Stunden (bis sie blasslila erscheinen) in einer 0,01%igen Lösung von Goldchloridkalium, welche ganz schwach mit Salzsäure angesäuert ist, belassen, sodann in destillirtem Wasser abgewaschen, welches ebenfalls sehr wenig Salzsäure enthält (1 auf 2000 bis 3000 Theile Wasser). Von hier werden die Schnitte für die Dauer von 10 Minuten in ein Gemenge von 1000 Theilen 60%igen Alkohols und 1 Theil Salzsäure, sodann in absoluten Alkohol (einige Minuten) und Nelkenöl übertragen, um endlich in Kanadabalsam eingeschlossen zu werden. Die erlangten Präparate sind nicht dauerhaft.

Hénocque [8]), Klein [9]) und Chrschtschonovitsch [10]) bedienen sich derselben Methode zum Zwecke der Darstellung der feinsten Nervenverzweigungen und ihrer Endigungen.

Die zu untersuchenden Objekte kommen für 30—45 Minuten in eine $^{1}/_{2}$%ige Goldchloridlösung, worauf sie für 12—24 Stunden in destillirtes Wasser übertragen werden. Die Reduktion geschieht in einer fast gesättigten Lösung von Weinsteinsäure, welche zum Zwecke der Beschleunigung der Reduktion sammt dem Objekte zu erwärmen ist. Dies wird am besten durch Eintauchen des ganzen Gefässes in Wasser bewirkt. Dieses Wasser erwärmt Hénocque bis zum Kochen, die zwei anderen Forscher dagegen nur bis zu 50° C., indem sie behaupten, dass eine höhere Temperatur für die Gewebe schädlich sei. Die Reduktion geht hier sehr rasch vor sich, was sich dadurch kundgiebt, dass die Stückchen plötzlich (mehr weniger im Verlaufe einer Viertelstunde) eine bräunliche, purpurrothe oder violette Farbe annehmen. Die Stückchen werden dann in Alkohol nachgehärtet und in Schnitte zerlegt.

Boll [11]) bedient sich bei der Untersuchung der nervösen Centralorgane der Gerlach'schen Methode, macht jedoch auf Grund eigener Erfahrungen wichtige Bemerkungen und führt die Bedingungen an, von welchen das Gelingen der Färbung abhängt, er behauptet nämlich, dass die Wirkung des doppelchromsauren Ammoniaks nicht über 8 Tage dauern soll, dass die Schnitte mit dem Alkohol nicht in Berührung kommen dürfen, weil sonst Fällungen leicht eintreten, schliesslich, dass die Schnitte in einer nicht zu grossen Menge der Goldchloridlösung ungefähr 12 Stunden zu verbleiben haben, was jedoch über 18 Stunden nicht auszudehnen ist.

Hoyer [12]) gebraucht zur Darstellung der Nerven der Cornea eine $^{1}/_{3}$%ige Lösung von Goldchloridkalium. Je nach der Dicke der Cornea verbleibt dieselbe in dieser Lösung von $^{1}/_{2}$—1 (vom Kaninchen und Meerschweinchen) bis 2—5 Stunden lang (vom Menschen und von grösseren Thieren, und zwar vortheilhafter in schwach mit Essigsäure angesäuerter Lösung). Wenn die gut imbibirte Hornhaut durch 16—24stündigen Aufenthalt (bei kühlerer Temperatur auch länger) in 30—60 Ccm. destillirten Wassers sich schwach graublau zu färben beginnt, setzt man dem Wasser 1—2 Tropfen Pyrogallussäure hinzu und lässt dieselbe $^{1}/_{4}$—$^{1}/_{2}$ Stunde lang einwirken. Die Stücke werden in Schnitte zerlegt und entweder in Glycerin oder in Damarlack oder Kanadabalsam eingeschlossen.

Nesterowsky [13]) verfährt folgendermassen, um die Nerven der Leber darzustellen: Die durch die Vena portarum mit einer $^{3}/_{4}$%igen Kochsalzlösung ausgewaschene Leber wurde gefroren und in Schnitte zerlegt. Die letzteren wurden auf folgende Art vergoldet: Sie kommen unter Lichtabschluss für 20—25 Minuten in $^{1}/_{4}$%ige Chlorgoldlösung. Aus dieser werden sie in eine wässerige Lösung von Glycerin (11 Theile Wasser und 1 Theil Glycerin) gelegt, welcher auf je eine Unze des Gemisches je zwei Tropfen koncentrirter Essigsäure (Acid. acet. concentr.) zugefügt wurden.

Nach 5—15 Tagen sind die Präparate in einem Gemisch aus gleichen Theilen Wasser und Glycerin, dem 1% Oxalsäure oder Essigsäure zugefügt wurde, unter dem Mikroskope zu untersuchen.

Wenn solche Präparate nichts Besonderes darstellten, wurden sie dem Einfluss des Lichtes ausgesetzt. Nach 2 Stunden wurde jedem Präparate je 1 Tropfen Ammoniak, welches mit Schwefelwasserstoff gesättigt war, zugefügt und das Präparat wiederum der Einwirkung des Lichtes ausgesetzt Nach 24 Stunden sind die Nerven schon wahrnehmbar und erst am 4. Tage ist das Präparat fertig. In seltenen Fällen, und zwar besonders dann, wenn ein zu grosser Tropfen Schwefelammonium dem Präparate zugefügt wurde. verschwindet am 5. Tage die ganze Zeichnung.

Die fertigen Präparate kann man mit Asphalt umgeben oder in Damarlack einschliessen.

Diese Methode beschreibt Lawdowsky folgendermassen: Die schon imprägnirten Schnitte werden sehr kurz mit einem Tropfen Schwefelammoniak behandelt. Sodann entfernt man diese Flüssigkeit schnell mit Fliesspapier und ersetzt sie durch reines Glycerin. Die metallischen Niederschläge werden darin gelöst, wodurch die Färbung distinkter erscheint. Diese Methode ist ebenso für periphere Nervenendigungen, wie auch für das Centralnervensystem anwendbar. Die Präparate sind im Dunkeln aufzubewahren.

Löwit[14]) modificirt zur Färbung der Nerven der glatten Muskeln die vor ihm angewendeten Methoden auf die Art, dass er das Gewebe vor der Vergoldung der Wirkung der Ameisensäure aussetzt, was die Aufquellung des Gewebes bewirkt und das Eindringen des Goldes erleichtert. Er verwendet hiezu ein Gemisch von 1 Th. Ameisensäure und 2 Th. Aqua dest. Kleine (1—2 Mm. dicke) Stückchen verbleiben darin ca. $^1/_2$ Minute, d. i. so lange bis sie durchsichtig geworden sind. Sodann werden dieselben in 1—2 Ccm. einer 1%igen Goldchloridlösung übertragen. Nach 10—15 Minuten werden sie, nachdem sie ganz gelb geworden sind, im Dunkeln in verdünnte, sodann nach 24 Stunden für dieselbe Dauer in reine Ameisensäure eingelegt. Endlich werden die Stückchen im dest. Wasser zerzupft und in Glycerin untersucht.

Fischer[15]) bedient sich in seinen Arbeiten über den Bau der Meissnerschen Tastkörperchen und über die Nervenendigung in quergestreiften Muskeln einer Modifikation der Löwit'schen Methode.

a) 2—3 Mm. dicke Stückchen Haut bleiben in einer Mischung von gleichen Theilen Wasser und Ameisensäure (1,12 spec. Gew.), bis die Epidermis sich abhebt. Dann werden sie auf eine Viertelstunde in 1—$1^1/_2$%ige Goldchloridlösung eingelegt und endlich behufs der Reduktion des Goldsalzes erst einer verdünnten Ameisensäure (1 Theil Säure zu 1—3 Theile Wasser) 24 Stunden und dann der unverdünnten Ameisensäure weitere 24 Stunden im Dunkeln ausgesetzt. Nach Härtung in absolutem Alkohol werden die Stückchen in Schnitte zerlegt und entweder in Glycerin oder nach Nelkenöl in Damarharz eingeschlossen.

b) Kleine Muskelstückchen werden in verdünnter Ameisensäure (Säure von 1,06 spec. Gew. 1 Th. zu 2 Th. Aqua dest.) behandelt, bis sie durchsichtig werden. Schon in der Ameisensäure werden sie mit Nadeln möglichst auseinandergezerrt, damit die Goldlösung leichter eindringe. In diese 1%ige Goldchloridlösung werden die Stückchen direkt aus der Ameisensäure gebracht und bleiben darin eine Viertelstunde. Dann werden die Muskelstückchen mit dest. Wasser abgewaschen und in eine Lösung von Ameisensäure (von 1 : 3 Th. Wasser) übertragen, in welcher sie 24 Stunden bleiben.

Thin and Ewart[16]) empfehlen die Injektion von $^1/_4$%iger Goldchloridlösung, lauwarm, von Arterien aus, als eine Methode nicht nur für die Herstellung von Linsenpräparaten, sondern auch für das Studium fast aller Ge-

webe. Für die Linse verfahren sie so, dass sie 10 Minuten nach der Injektion die Augen (Frosch) herausnehmen und noch für 15 Minuten in eine $^1/_2$%ige Goldchloridlösung einlegen, um sie dann in eine Mischung von Glycerin und Wasser zu bringen. Nach 24 Stunden wird die Linse für einige Minuten in eine starke Lösung von Hämatoxylin mit Alaun gebracht und dann in Glycerin zerzupft.

ARNSTEIN[17]) untersucht die Nerven der behaarten Haut, indem er die Haut zum Zwecke der Entfernung des Epithels zuerst 24 Stunden der Wirkung des Kalkwassers aussetzt. Er schneidet sie nach Abspülen im Wasser in kleine Stücke (höchstens 1 Cm. im Quadrat) und legt dieselben auf 5 Minuten in eine $^1/_4$%ige Chlorgoldlösung ein. Die Reduktion beginnt schon nach einigen (2—3) Minuten, was sich dadurch kundgiebt, dass das ganze Hautstück einen Stich ins Bräunliche erhält. Jetzt wird das Präparat in destillirtem Wasser der weiteren Reduktion überlassen. Nach 24 Stunden ist dieselbe bereits vollendet und das Hautstück erscheint intensiv violett. Da es gewöhnlich von einem körnigen Niederschlag durchsetzt ist, löst ARNSTEIN denselben in $^1/_4$%iger Cyankalilösung auf. Ueberfärbte Präparate kann man mittels dieser Lösung entfärben und eine reine Färbung der Achsencylinder erhalten, welche auf einem beinahe farblosen Grunde purpurroth erscheinen. ARNSTEIN schreibt der vorhergehenden Kalkwasserbehandlung eine schnellere und vollständigere Reduktion und eine distinktere Färbung zu.

Dann Einlegen in absoluten Alkohol, Nelkenöl und Damarlack.

FLECHSIG[18]) bedient sich bei Untersuchungen des Centralnervensystems eines in 1%iger Lösung von doppelchromsaurem Ammoniak erhärteten Materials. Die Schnitte werden in destillirtem Wasser abgespült, sodann gelangen sie in eine $^1/_2$%ige Goldchloridlösung, wo sie für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde verbleiben. Nach neuerlichem Abwaschen in destillirtem Wasser werden sie in eine 10%ige Lösung von Natron caust. übertragen. Hier geht die Reduktion sehr schnell vor sich. Nach einigen Stunden werden die Schnitte herausgenommen, in dest. Wasser abgewaschen und in Kanadabalsam eingeschlossen.

RANVIER[19]) giebt zwei Vergoldungsmethoden an, welche er in seinem Traité technique, I. Bd., 1875—1882 beschrieben hat.

a) Die eine Methode mit Citronensäure gebraucht er für die Hornhaut und die Muskeln.

Für die Darstellung der Hornhautzellen giebt ihm folgendes Verfahren die besten Resultate: Kleine Stückchen der Cornea werden für 5 Minuten der Wirkung des frischen, durch Flanell filtrirten Citronensaftes ausgesetzt. Dann werden sie eine Viertelstunde in 1%iger Lösung von Goldchloridkalium gelassen und endlich in mit Essigsäure angesäuertem Wasser am Tageslicht reducirt.

Für die Darstellung der Nervenendigungen in der Cornea und in den Muskeln bedient er sich nachstehender Methode: Kleine Muskelstückchen werden 5—10 Minuten im frischen, durch Flanell filtrirten Citronensaft gelassen, dann abgespült und in 1%ige Goldchloridlösung für durchschnittlich 20 Minuten gebracht. Nach abermaligem Abwaschen werden die Stückchen in 50 Ccm. dest. Wassers, dem zwei Tropfen Essigsäure zugesetzt wurden, übertragen, wo sie 24—48 Stunden bleiben. Da solche Präparate nicht genug dauerhaft sind, kombinirt RANVIER dieses Verfahren mit dem von LÖWIT, indem er die Stückchen aus Gold unter Lichtabschluss in einige Cubikcentimeter einer Lösung von 3 Theilen Wasser und 1 Theil Ameisensäure überträgt. Nach 24 Stunden werden die Stückchen in reines oder mit Ameisensäure angesäuertes Glycerin eingelegt.

b) Die zweite Methode stellt sich nachstehends dar: Man bereitet ein Gemisch von 4 Th. 1%igen Goldchlorids und 1 Th. Ameisensäure,

welches zum Kochen gebracht und wieder abgekühlt worden ist. Das Aufkochen soll die elektive Wirkung des Goldes auf die Nerven verstärken und eine grössere Neigung zur Reduktion bewirken.

Je nach dem Gewebe belässt man die Stückchen in dieser Lösung 10 Minuten bis $1^1/_2$ Stunden, nämlich bis zur völligen Durchtränkung. Sodann spült man dieselben im Wasser ab und legt sie im Dunkeln in verdünnte Ameisensäure (1 : 4 Wasser) ein oder belässt sie am Licht in mit Essigsäure angesäuertem Wasser.

Will man Schnitte aus vergoldeten Objekten anfertigen, so legt man die Stückchen zum Zwecke der Härtung für 24 Stunden oder länger in Alkohol ein, welcher gleichzeitig den weiteren Fortschritt der Reduktion hemmt.

Golgi [20]) wendet zur Darstellung der Sehnennerven nachstehende Methode an: Die in $2^0/_0$iger Lösung von doppelchromsaurem Kali gehärteten Objekte kommen zunächst auf 10—20 Minuten in eine $1^0/_0$ige Lösung von Arsensäure, bis sie durchsichtig werden, dann auf 20—30 Minuten in eine $^1/_2{}^0/_0$ige Lösung von Goldchloridkalium. Die Stückchen werden nach vorläufigem Abwaschen mit Wasser in eine $1^0/_0$ige Lösung von Arsensäure übertragen, an welcher an der Sonne innerhalb 24—30 Stunden die Reduktion eintritt. Diese letztere Lösung wird gewechselt, sobald sie braun wird. Die Objekte werden in Glycerin eingeschlossen.

Retzius. [21]) Bei der Untersuchung der quergestreiften Muskelfasern erhielt Retzius die besten Resultate mit dem Goldchlorid.

Entweder nach kurzer Vorbehandlung mit Ameisensäure ($1^0/_0$) oder ohne dieselbe wurden die dem lebenden Thiere entnommenen Muskeln in eine $^1/_5$—$^1/_2{}^0/_0$ige Goldchloridlösung getaucht und in derselben vorsichtig mit Nadeln auseinandergezogen; nach etwa 25 Minuten wurden sie in $1^0/_0$ige Ameisensäure gebracht und dem Lichte ausgesetzt. Die Färbung gelang ebenso gut im Dunkeln, mit oder ohne Amylalkohol. Nach 10—20 Stunden waren die Präparate fertig.

Carrière [22]) benützt in seinen Untersuchungen der Herbst'schen und Grandry'schen Körperchen im Entenschnabel die von Böhm angegebene Methode. Er geht nämlich folgendermassen vor: Die Stücke gelangen zuerst für 20 Minuten in $50^0/_0$ige Ameisensäure, sodann nach dem Abwaschen für dieselbe Zeitdauer in $1^0/_0$ige Goldchloridlösung, um nach neuerlichem kurzen Abspülen in Pritchard'sche Lösung (Amylalkohol 1, Ameisensäure 1, Wasser 98) übertragen zu werden. In diesem Gemisch verbleiben sie im Dunkeln 24 Stunden.

Marchi [23]) bedient sich bei seinen Untersuchungen der Terminalorgane der Nerven in den Sehnen der Augenmuskeln zweier Methoden. Die eine ist die oben beschriebene Methode Golgi's, in welcher er blos insofern eine Aenderung eintreten lässt, dass er durch 3 Tage mittels einer $2^0/_0$igen Lösung von doppelchromsaurem Kali, sodann durch 30 Minuten mittels $1^0/_0$iger arseniger Säure oder Essigsäure und ebensolange mittels $1^0/_0$iger Goldchloridlösung auf das Gewebe einwirkt.

Die zweite Methode ist die durch Manfredi angegebene, welche von ähnlichen, früher angewendeten Methoden sich dadurch unterscheidet, dass ganz frische Gewebe, nachdem sie $^1/_2$ Stunde in $1^0/_0$iger Goldchloridlösung belassen wurden, in $^1/_2{}^0/_0$ige, auf 36° C. erwärmte Oxalsäurelösung übertragen werden, wo sie bis zur Abkühlung dieser letzteren verbleiben und sodann in Glycerin aufgehoben werden.

Bremer [24]) modificirt bei der Prüfung der Nervenendigungen in quergestreiften Muskeln Löwit's Methode auf nachstehende Art: Er setzt zuerst die Muskeln der Wirkung einer $25^0/_0$igen Ameisensäure aus, bis sie

durchsichtig sind, sodann überträgt er sie für 15—20 Minuten in 1%ige Goldchloridlösung, hierauf legt er sie für 24 Stunden in eine 25%ige, sodann in eine 50%ige Ameisensäure für dieselbe Zeitdauer, schliesslich verbleibt das Material 2—3 Wochen in 20%igem ameisensaurem Glycerin, wo es sich etwas entfärbt und stark macerirt.

Ciaccio [25]) stützt sich bei der Untersuchung der motorischen Nervenendigungen theils auf die Methode von Löwit, theils auf jene von Ranvier. Kleine Stücke von Muskeln werden auf 5 Minuten in frisch ausgepressten und filtrirten Citronensaft getaucht. Nach Abspülen in destillirtem Wasser werden sie auf 1/2 Stunde bei Lichtabschluss in 1%iger Lösung von Goldkadmiumchlorid gebracht und alsdann nach abermaligem Auswaschen zuerst 12 Stunden im Dunkeln, dann ebensolange bei Licht in leicht mit Ameisensäure (1%) angesäuertem Wasser liegen gelassen. Endlich werden die Stückchen nach nochmaligem Auswaschen im Price'schen Glycerin zerzupft, worin sie sich in Fasern auflösen.

Obige Methode hat der Autor auch an der Cornea erprobt und erhielt sehr zufriedenstellende Resultate. Dieses Verfahren soll nicht so unsicher sein wie andere ähnliche und soll auch zur Bildung der störenden Niederschläge minder geneigt sein.

Gruenhagen [26]) wendet zum Nachweis der Nerven der Ciliarfortsätze des Kaninchens folgende Vergoldungsmethode an: Er bringt die Iris für 2—3 Stunden in verdünnte Essigsäure (12 Tropfen Essigsäure in 100 Ccm. Wasser), dann für 1 Stunde in 10 Ccm. einer 1/2%igen Goldchloridlösung und endlich unter Lichtabschluss für 2—4 Tage in eine verdünnte Ameisensäure (1 : 4).

Cybulski [27]) bedient sich zur Färbung der Nerven in der Schnauze und Oberlippe von Ochsen einer Modifikation der Hénocque'schen Goldmethode. Damit die Goldlösung bei der bedeutenden Dicke der Epidermis hinreichend einwirke, bereitet Cybulski aus ganz frischen Stückchen der mit einer dünnen Lage der Lederhaut abgetragenen Epidermis, mittels eines befeuchteten Rasirmessers feine Schnitte, welche in 1/2—1/16%ige Goldchloridlösung übertragen werden. Nach 1/4—3/4 Stunden kommen die Schnitte für höchstens 1 1/2—2 Stunden in destillirtes Wasser, hierauf in eine verhältnissmässig grosse Menge gesättigter oder zur Hälfte verdünnter Weinsteinsäurelösung. Diese wird in hermetisch verschlossenem Gefäss in Wasser von 50—60° C. Wärme gestellt. Die Reduktion erfolgt oft schon nach 1/4 oder 1/2 Stunde. Manchmal tritt sie erst später ein und dann wird die Erneuerung der Säure nöthig.

Viallanes [28]) behandelt die Gewebe der Insekten zuerst mit 1%iger Osmiumsäure, bis sie braun werden, und dann mit 25%iger Ameisensäure 10 Minuten lang. Dann werden die Objekte in 0,02%ige oder noch schwächere Lösung von Goldchlorid für 24 Stunden (im Dunkeln) übertragen, endlich in 25%iger Ameisensäure im Licht belassen, bis sie reducirt sind.

Freud's [29]) Verfahren zum Studium des Faserverlaufes im Centralnervensystem giebt sehr ähnliche Resultate wie die Weigert'sche Hämatoxylinfärbung, ist jedoch unsicherer und umständlicher. Dasselbe stellt sich nachstehends dar:

1. Härtung in Kal. bichr. oder in Erlicki'scher Flüssigkeit, dann in Alkohol.

2. Schneiden und kurzes Abspülen der Schnitte in destillirtem Wasser.

3. Färben 3—5 Stunden lang in einem Uhrschälchen mit 1%iger Goldchloridlösung, welcher das gleiche Volumen starken (94%) Alkohols zugesetzt wird.

4. Auswaschen in destillirtem Wasser.

5. Uebertragen mit Holzstiften oder Glasnadeln auf 2—3 Minuten in Natron caust. fusum. 1:5—6 Wasser.

6. Abwaschen in destillirtem Wasser.

7. Einbringen auf 5—6—15 Minuten in 10—12%ige Jodkalilösung, wo die Schnitte rosa werden. Nach 5—15 Minuten ist die Färbung vollendet.

8. Abwaschen in Wasser; dann Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

»So behandelte Präparate zeigen die groben und feinen markhaltigen Fasern in ausgezeichneter Deutlichkeit dunkelbraun bis schwarz auf lichtrothem oder blau auf ungefärbtem Grunde.«

Mays[30]) bedient sich zum Zwecke des Studiums der Nervenausbreitung im Muskel einer Kombination der Osmiumsäuremethode mit der Goldimprägnation. Der Zusatz des Goldchloridkaliums soll die störende Bräunung der Muskelsubstanz verhindern, die bei der einfachen Osmiumsäurebehandlung auftritt.

Für dünne Muskeln verfährt man folgendermassen:

Man lege die frisch präparirten Muskeln in folgendes frisch bereitetes Gemisch ein: $\frac{1}{2}$%ige Goldchloridkaliumlösung 1,0, 2%ige Ueberosmiumsäure 1,0, Wasser 20,0, bis die baumförmige Nervenverästelung unter dem Mikroskope erkennbar ist. Hierauf übertrage man die Objekte in das von Ewald benutzte Glyceringemisch: Glycerin 40,0, Wasser 20,0, cirka 25%ige Salzsäure 1,0.

Da dickere Muskeln doch stark nachdunkeln, empfiehlt Mays für dieselben folgende Methode:

Der frische Muskel kommt erst auf 12 Stunden in eine reichliche Quantität einer 2%igen Lösung von Eisessig und dann in ein frisches Gemisch: $\frac{1}{2}$%ige Goldchloridkaliumlösung 1,0, 2%ige Osmiumsäure 1,0, 2%ige Essigsäure 50,0.

Wenn die nöthige Färbung der Nerven erreicht ist (nach etwa 2 bis 3 Stunden), werden die Muskeln in die obige mit Salzsäure angesäuerte Glycerinmischung für einige Stunden übertragen.

Hier werden die Muskeln durchsichtig und die Nerven erscheinen schwarzbraun in bernsteinfarbigem, glashellem Muskel. Leider färbt sich nur ein kleiner Theil von den marklosen Nerven.

Die besten Resultate erhält jedoch Mays mit nachstehender Methode: Man lasse den Muskel in 0,5%iger Arsensäure vollkommen aufquellen und bringe ihn dann auf 20 Minuten in folgendes frisch bereitetes Gemisch von: 1%iger Goldchloridkaliumlösung 4,0, 2%iger Osmiumsäure 1,0, 0,5%iger Arsensäure 20,0.

Hierauf wird der Muskel in Wasser abgespült und in einer 1%igen Arsensäurelösung auf einem Wasserbade, welches auf 45° C. erhalten wird, der Sonne ausgesetzt. Nach 3 Stunden kommt er in das Salzsäureglyceringemisch und kann sofort untersucht werden.

An gelungenen Präparaten sind alle, auch die marklosen Nervenfasern, dunkelviolett gefärbt, die Muskelfasern bleiben ungefärbt oder sind nur schwach bräunlich.

Miura[31]) empfiehlt zur Darstellung eigenthümlicher netzartiger Gebilde in der Leber folgende Goldimprägnation: Ganz frische oder einige Tage in Müller'scher Flüssigkeit konservirte Leberstücke kommen zuerst in eine Traubenzuckerlösung ($100\,H_2O$ + 20 Sacchar. tart. + 1 Natr. chlorat.) für 8—12 Stunden, dann in 0,5%ige Goldchloridnatriumlösung für 12—24 Stunden. Danach gelangen sie wieder in die Traubenzuckerlösung entweder auf 12 bis 48 Stunden bei gewöhnlicher, oder (weniger gut) auf 2—3 Stunden in Brutofentemperatur (40—50° C.). Hier erfolgt die Reduktion, indem die Stücke dunkelviolett erscheinen. Dann werden die Stücke mit dem Gefriermikrotom

geschnitten und in Glycerin untersucht. Sie können auch in Celloidin eingebettet werden.

Was die Natur der Geflechte anbelangt, so werden dieselben von den einen als Nervennetze, von den anderen als Netze elastischer Fasern gedeutet.

Boccardi[32]) giebt zur Untersuchung der Nervenendigungen in den Froschmuskeln eine Modifikation der Methode Ranvier's an. Auch hier behandelt man zunächst die Muskeln mit Citronensaft und Goldchlorid oder einer Mischung von Goldchlorid und Ameisensäure. Nach Abspülen mit destillirtem Wasser werden die Stückchen für etwa 2 Stunden in eine 0,1—0,3%ige Oxalsäurelösung oder besser in folgende Mischung übertragen: Acid. formic. pur. 5 Ccm., Acid. oxal. 1% 1 Ccm., Aq. dest. 25 Ccm., dann werden sie in Wasser abgespült und in Glycerin eingelegt.

Delage[33]) bringt Planarien (Convoluta Schultzii O. Sch.) zuerst für 2 Minuten in Drittel-Ameisensäure (33 Theile Ameisensäure, 100 Theile Aq. dest.) und dann für 10—12 Minuten in eine reichliche Menge 1%iger Goldchlorürlösung; dann werden sie in 2%ige Ameisensäure übertragen, in welcher sie im Dunkeln bis zur vollständigen Reduktion verbleiben, was einen bis drei Tage dauert. Sind die Objekte zu dunkel geworden, so kann man sie in einer 1/2%igen Cyankaliumlösung entfärben, was verschieden lang (2—24 Stunden) dauert. Will man das Entfärben unterbrechen, so muss man Cyankalium durch 2%ige Ameisensäure ersetzen. Einschluss in Glycerin oder Balsam.

Von allen Geweben färbt sich das Nervensystem am ehesten und entfärbt sich zuletzt.

Drasch[34]) bedient sich bei seinen Untersuchungen des Dünndarms und Geschmacksorgans mehr weniger derselben Methode: Er verwendet nämlich ein nicht ganz frisches Material, welches 10—24 Stunden (Dünndarm), ja sogar 24—48 Stunden und noch länger (Geschmacksorgan) an einem kalten Orte (+ 4—6° C.) lag.

Er ist nämlich zu der Ueberzeugung gelangt, dass eben ein gewisser Grad von Zersetzung für das Gelingen der Vergoldung nothwendig ist und dass in diesem Falle die Vorbehandlung der Gewebe mit Citronensäure, Ameisensäure, Kalkwasser, welche nach Ansicht des Autors, die Gewebe in einen für die Vergoldung günstigen Zustand bringen sollen, wegfallen kann.

Solche Objekte werden im Dunkeln in eine 1/2%ige Goldchloridlösung gebracht. Nach einer halben bis dreiviertel Stunde gelangen sie in verdünnte Ameisensäure (10: 50 Theile Wasser und für das Geschmacksorgan 5 bis 10 Tropfen Ameisensäure in eine halbe Eprouvette Wasser). Nach vollzogener Reduktion werden die Präparate in Glycerin übertragen, welches so lange gewechselt wird, bis es keine Säure enthält.

Der Procentgehalt der Goldlösung und der Ameisensäure scheint hier keine Rolle zu spielen. Die Präparate, welche nach ihrer Entfernung aus der Goldlösung hart waren und deren Epithel nicht gequollen war, zeigten eine distinkte Färbung, jene dagegen, welche stark erweichten und deren Epithel zu quellen begann, waren misslungen.

Grieb[35]) modificirt für das Studium des Verdauungskanals bei Helix aspersa das Verfahren von Ranvier und Löwit auf nachstehende Art: Der Darm wird zunächst in destillirtem Wasser tüchtig gewaschen, dann direkt in eine 1%ige Goldchlorürlösung auf 5—7 Minuten und endlich direkt in ein Gemisch von 4 Theilen destillirten Wassers und 1 Theil Ameisensäure für die Dauer von 24 Stunden ins Dunkle übertragen.

Kühne[36]) gebraucht zur Untersuchung der motorischen Nervenendigungen neben der Löwit'schen und Golgi'schen Methode folgende Modifikationen derselben:

a) Vorsäuern mit Ameisensäure von $^1/_2$%, Goldchlorid von 1%. Nachbehandlung mit einer Mischung von Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen, welcher $^1/_4$—$^1/_5$ Vol. Ameisensäure zugesetzt worden, im Dunkeln. (Besonders brauchbar für die Muskeln der Warmblüter.)

b) Wie *a)*, aber ohne Vorsäuern (für Kaltblüter).

c) Eine Abänderung der GOLGI'schen Methode, bestehend im Einlegen der Muskelstreifchen in eine Mischung von Arsensäure $^1/_2$%, Goldchloridkalium $^1/_4$% und von Osmiumsäure 0,1%, Nachbehandlung mit Arsensäure 1% und Reduktion durch Sonnenlicht. (Am besten für Reptilien.)

KOLOSSOW [37]) wendet speciell für alle bindegewebigen Bildungen folgendes Verfahren an: Die Objekte werden je nach der Grösse im Laufe von 2—3 oder mehreren Stunden mit 1%iger Goldchloridlösung, welcher auf 100 Theile 1 Theil Salzsäure zugesetzt wurde, durchtränkt, dann flüchtig mit Wasser abgespült und im Dunkeln in $^1/_{50}$—$^1/_{100}$%iger Chromsäurelösung 2—3 Tage reducirt. Dann Auswaschen im Wasser, dann Alkohol, Nelkenöl und Einschluss des Präparates in Kanadabalsam.

CATTANEO [38]) bedient sich bei Untersuchung der Nervenendigungen in den Sehnen nachstehender Methode: Die vom Muskel abpräparirte Sehne wird für 15 Minuten in eine 0,5%ige Lösung von Arsensäure eingelegt, dann kommt sie in eine reichliche Menge einer 0,5—1%igen Lösung von Goldchloridkalium. Nach einer halben Stunde, nachdem das Präparat eine leicht strohgelbe Färbung angenommen hat, wird es in destillirtem Wasser gut ausgewaschen und in einer 0,5—1%igen Lösung von Arsensäure für die Dauer eines Tages dem Sonnenlichte ausgesetzt.

Endlich wird das Präparat in dest. Wasser gut ausgewaschen und in Glycerin eingeschlossen.

MERCIER [39]) führt zwei UPSON'sche Methoden an, welche zwar complicirt sind, jedoch sehr schöne Färbungen der Achsencylinder und Zellen geben.

Die Methoden können nur auf Stücke des Centralnervensystems, welche vorläufig durch mehrere Wochen in 1%iger, sodann durch 4—6 Monate in 2—2,5%iger wässeriger Lösung von Kali bichromicum gehärtet wurden, Anwendung finden. Die Härtung ist im Dunkeln durchzuführen.

Die gehärteten Stücke werden in destillirtem Wasser möglichst rasch abgespült und kommen für 2—3 Tage in 50%igen Alkohol, welcher mehreremale erneuert werden soll.

Sodann überträgt man die Stücke für 2—4 oder mehrere Wochen in 95%igen, öfters zu wechselnden Alkohol, bis sie eine deutlich grünliche Farbe zeigen.

Die so vorbereiteten Stücke werden in Celloidin eingebettet und geschnitten. Beim Schneiden ist ein 80%iger Alkohol zu gebrauchen. Die Stücke können nach zwei Methoden gefärbt werden.

Methode I. Die Stücke werden je nach der Dicke für 1—2 Stunden in eine 1%ige Goldchloridlösung, welcher 2% Salzsäure zugesetzt wurden, eingelegt. Dann werden die Schnitte in destillirtem Wasser abgespült und gelangen in eine frisch hergestellte Mischung von: 10%ige Kalilösung 5 Ccm., Ferricyankalium Spur (d. h. nicht einmal ein halberbsengrosses Stück), wo sie eine halbe Minute bleiben. Nach gründlichem Abwaschen werden die Schnitte für eine halbe Minute zum Zwecke der gänzlichen Entfernung von Ferricyankalium und der hierdurch bedingten Vorbeugung der späteren Bildung eines Niederschlages von Berlinerblau in eine 10%ige Kalilösung eingelegt.

Um sich die Gewissheit zu verschaffen, dass solche Niederschläge sich trotz dieser Vorsicht nicht bilden, kann man die Schnitte unmittelbar (unter Weglassung von Ferricyankalium) nach Ausspülen in destillirtem Wasser

für $^1/_2$ Minute in eine 10%ige Kalilösung übertragen. Von hier überträgt man die Schnitte in destillirtes Wasser, spült dieselben gut ab und bereitet sodann nachstehende reducirende Flüssigkeit:

Acidum sulfurosum 5 Ccm., 3%ige Tinct. Jodi 10—15 Tropfen, mischen und hinzufügen Liquor ferri chloridi 1 Tropfen.

Unmittelbar nach Herstellung dieser Mischung werden die Schnitte einzeln in dieselbe gebracht, wobei zu beachten ist, dass der ganze Schnitt auf einmal überschwemmt werde. Sobald der Schnitt eine schöne rosarothe Farbe zeigt (aber nicht länger!), was sofort geschieht, muss er sogleich mit destillirtem Wasser abgewaschen werden. Sodann Alkohol absolutus 5 bis 15 Minuten, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Die Präparate sind im Dunkeln aufzubewahren.

Methode II. Die Schnitte kommen für 2 Stunden in folgende Flüssigkeit: 1%ige Goldchloridlösung 5 Ccm., Ammonium vanadicum (gesättigte Lösung) 10 Tropfen, Acidum hydrochloricum 3 Tropfen.

Nach Abwaschen in destillirtem Wasser werden die Schnitte in folgende frisch herzustellende, reducirende Flüssigkeit gebracht.

Vor allem sind folgende zwei Lösungen zu bereiten:

a) Zinnlösung: Zu einem gewissen Quantum 3%iger Jodtinktur wird soviel Zinnchlorid zugefügt, bis die Farbe derselben weiss oder gelblich wird. Diese Lösung ist gut haltbar.

b) Eisenlösung: Einfache Herstellung einer gesättigten Lösung von Ferrum phosphoricum in Aqua destillata.

Mit Hilfe dieser beiden Lösungen wird die reducirende Flüssigkeit II vorbereitet: Zinnlösung 15 Tropfen, Aqua dest. 3 Ccm., Eisenlösung 3 bis 5 Tropfen, Acidum sulfurosum 3 Ccm. In dem Augenblicke, in welchem Acidum sulfurosum zugefügt wird, entsteht ein dichter Niederschlag und eben jetzt muss der Schnitt in die Mischung gebracht werden.

Die für die 1. Methode angegebenen Vorsichtsmassregeln gelten auch hier, jedoch in einem noch verschärften Grade.

Der roth gefärbte Schnitt wird in Wasser rasch abgewaschen und hierauf nach Methode I weiter behandelt.

Obregia[40]) gebraucht das Gold zu dem Zwecke, um die nach Golgi mit Sublimat oder Silber behandelten Präparate dauerhaft zu machen.

Solche Präparate werden in Schnitte zerlegt, wobei man sich eines wenigstens 94%igen Alkohols bedient.

Die Schnitte gelangen aus absolutem Alkohol in folgende Mischung: 1%ige Goldchloridlösung 8—10 Tropfen, Alkoh. absol. 10 Ccm.

Diese Mischung ist eine halbe Stunde vor dem Gebrauche herzustellen und dem diffusen Lichte auszusetzen.

Die Schnitte verbleiben in der Goldlösung im Dunkeln je nach der Dicke 15—30 Minuten.

Das Silber wird allmählich durch Gold ersetzt, das Quecksilber in Goldamalgam umgewandelt; es treten schliesslich schwarze Zeichnungen auf weissem Felde hervor.

Darauf werden die Schnitte zuerst in 50%igem Alkohol, dann in destillirten Wasser abgespült, endlich in eine 10%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron gebracht, in der sie je nach der Dicke 5—10 Minuten verbleiben. Schliesslich werden die Schnitte gründlich gewaschen.

Solche Schnitte können nachgefärbt und unter einem Deckgläschen in Damarharz eingeschlossen werden.

Ziehen[41]) empfiehlt für das Centralnervensystem als Ersatz für die Golgi'sche Methode folgendes Verfahren:

Kleine, womöglich lebenswarme Stückchen des Centralnervensystems legt man in eine Mischung von gleichen Theilen einer 1%igen Goldchloridlösung und einer 1%igen Sublimatlösung. Hier verbleiben die Stücke mindestens 3 Wochen, besser mehrere (bis 5) Monate. Werden reichliche Mengen der obigen Flüssigkeit verwendet, so ist ein öfteres Wechseln derselben nicht nöthig.

Die metallisch-rothbraun aussehenden Präparate werden ohne Einbettung in dünne Schnitte zerlegt und kommen zur Differenzirung entweder in verdünnte (1 : 4) LUGOL'sche Lösung oder in verdünnte Jodtinktur, welche man je nach der Dicke der Schnitte verschieden lang einwirken lässt. Die Dauer der Entfärbung spielt hier eine wichtige Rolle. Durch entsprechende Variirung derselben kann man verschiedene Elemente deutlich gefärbt erhalten.

Dann gründliches Auswaschen in absolutem Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam. Metallinstrumente, mit Ausnahme des Mikrotommessers, sind möglichst zu vermeiden.

Diese Methode färbt ebenso markhaltige wie auch marklose Nervenfasern, ferner Nerven- und Gliazellen blaugrau.

PIANESE[42]) macht bei der Untersuchung der Nerven des Perikards folgende Erfahrungen: Die mit Goldchlorür behandelten Präparate fielen gleich gut aus, wenn man die Stücke nach der Imprägnation statt in Citronensaft oder Ameisensäure in 2%iger Essigsäure oder 4%iger arseniger Säure oder 1%iger Osmiumsäure maceriren liess. Goldchlorid und Kali machten ebenfalls die feinen Nervennetze deutlich

Folgende Methode ist sehr zu empfehlen: Das Objekt wird nach der Maceration in Ameisensäure oder in Citronensaft und nach der Imprägnirung mit Goldchlorür statt in Ameisensäure auf 12 Stunden in ameisensaures Hämatoxylin oder Karmin gethan.

Auf einem gleichmässigen leicht bläulichen (Hämatoxylin) oder rosafarbenen (Karmin) Grunde erscheinen die Nervenfasern intensiv violett. Man bereitet das Ameisensäure-Hämatoxylin auf nachstehende Weise:

6 Ccm. einer gesättigten alkoholischen Lösung von Hämatoxylin werden mit 50 Ccm. einer gesättigten wässerigen Lösung von Alaun vermischt. Nachdem die Mischung 8 Tage am Lichte verweilt hat, werden 20 Ccm. Ameisensäure und 5 Ccm. neutrales Glycerin hinzugefügt und filtrirt.

Nach 6—8stündigem Färben wäscht man die Objekte sorgfältig in destillirtem Wasser, entwässert und schliesst sie in Balsam ein.

Ameisensäure-Karmin dagegen stellt man auf folgende Weise her: 20 Ccm. Ameisensäure werden mit 40 Ccm. destillirten Wassers vermischt und bis zum Aufkochen erhitzt. Dann wird die Flüssigkeit mit Karmin in Pulverform gesättigt und warm filtrirt. Beide Lösungen halten sich lange.

BERNHEIM[43]) geht zur Verfolgung der marklosen Nervenfasern der Harnblase beim Frosche und Salamander auf folgende Weise vor:

1. 2%ige Essigsäure oder 1%ige Essigsäure, der man auf 10 Ccm. 4 Tropfen Ameisensäure zugesetzt hat, durch 15 Minuten.

2. 1%ige Goldchloridlösung 20 Minuten lang oder $1\frac{1}{2}$%ige Lösung 7—10 Minuten lang.

3. Nach gutem Waschen in destillirtem Wasser Uebertragung in folgende Reduktionsflüssigkeit: 10 Ccm. der LÖWIT'schen Mischung von 1 Theil Ameisensäure und 3 Theilen Wasser, der man ein Körnchen schwefligsauren Natriums ($NaHSO_3$) zugefügt hat.

Die Terminalfibrillen nehmen einen bräunlichen Ton an.

LEPKOWSKI[44]) empfiehlt zur Darstellung der Dentinkanälchen folgende Methode: $\frac{1}{2}$—$\frac{3}{4}$ Mm. dicke Sägeschnitte vom Zahne werden auf 24 Stunden in ein Gemisch von 6 Theilen 1%iger wässeriger Lösung von Gold-

chlorid und 3 Theilen reiner Ameisensäure gelegt. Dann werden die Knochenplättchen in destillirtem Wasser gewaschen und in einer Mischung von Gummi arabicum und Glycerin 24 Stunden reducirt. Nach abermaligem Waschen werden sie entwässert, in Celloidin oder Paraffin eingebettet und geschnitten. Solche Schnitte zeigen stellenweise feine Dentinkanälchen, welche mit den sich bildenden Niederschlägen ausgefüllt sind.

Geberg [45]) modificirt bei Untersuchung der Innervation der Gaumenhaut bei Schwimmvögeln unwesentlich die Methode von C. Arnstein. Er setzt nämlich das Objekt einer ein- bis zweitägigen Einwirkung des Kalkwassers aus, entfernt dann das Epithel und legt das Präparat für cirka 30 Minuten in eine $^1/_2$ %ige Chlorgoldlösung oder in eine $^1/_2$ %ige Goldchloridnatriumlösung ein. Die Reduktion erfolgt in angesäuertem Wasser. Ueberfärbte Präparate werden mit $^1/_4$ %iger Cyankaliumlösung behandelt.

Apáthy [46]) bedient sich mit dem besten Erfolge nachstehender Methode, um die Beschaffenheit der leitenden, respektive kontraktilen Primitivfibrillen der Muskelfaser von Ascaris, Lumbricus und Hirudo nachzuweisen:

Man verwendet zur Fixirung entweder: *a)* eine Mischung von gleichen Theilen einer mit Sublimat gesättigten $^1/_2$ %igen Kochsalzlösung und Alkohol absolutus oder *b)* eine Lösung von 3 % Sublimat und $^1/_2$ % Kochsalz in 50 %igem Alkohol.

Die Fixirung dauert 12—24 Stunden. Für Ascaris ist eine siedende Lösung, für Hirudineen eine kalte vortheilhafter. Sodann werden die Objekte allmählich durch 50—90 %igen Alkohol durchgeführt. Dem letzteren wird zur vollkommenen Entfernung des Sublimates Jodtinktur hinzugefügt. Im weiteren Verlaufe bettet man die Objekte in der gewohnten Weise in Paraffin ein. Dünne Schnittserien werden in 1 %iger Goldchloridlösung ins Dunkle gestellt. Nach 24 Stunden wird die Goldchloridlösung mittels Löschpapier von den Schnitten vollkommen entfernt. Jetzt kommt der Objektträger direkt in ein reichliches Quantum von 1 %iger Ameisensäure, worin er 24 Stunden dem diffusen Tageslicht ausgesetzt wird. Dann gründliches Auswaschen der Säure in destillirtem Wasser, respektive gleich in 70 %igem Alkohol und Einschluss in Gummisyrup, resp. Harz.

Pfeiffer. [47]) Unter mehreren anderen Methoden der Färbung der Süsswasseralgen liefert dem Autor auch das Goldchlorid mit Pyrogallussäure günstige Resultate. Er verfährt folgendermassen:

Die fixirten und gut ausgewaschenen Algen kommen vor Belichtung geschützt auf eine bis mehrere Stunden in eine Mischung von 1—3 Theilen 1 %iger wässeriger Chlorgoldlösung, 1 Theil koncentrirter wässeriger Lösung von essigwolframsaurem Natron und 2—4 Theilen Wasser. Nach genügender Durchtränkung werden sie in Wasser rasch abgespült und darauf in ein Gemisch von 1 Theil koncentrirter wässeriger Pyrogallussäure und 9 Theile destillirten Wassers übertragen. Hier bleiben die Objekte so lange, bis man sicher ist, dass alles Gold reducirt ist (mindestens 20 Minuten). Dann werden sie stundenlang in Wasser gewaschen und beliebig eingeschlossen.

Frey [48]) hat eine Methode erfunden, bei welcher das Gold nicht die marklosen Fasern und Achsencylinder, sondern die Markscheiden färbt. Man verfährt folgendermassen: Kleine Hautstückchen (bis 0,1 Ccm. gross) werden am besten im Eisschrank mindestens 2 Wochen lang in einer 2 %igen wässerigen Lösung von doppelchromsaurem Ammoniak gehärtet, dann etwa 10 Minuten lang in fliessendem Wasser gewaschen und für eine Stunde in ein Goldbad übertragen, welches 1 % Goldchlorid und 1 % Salzsäure enthält. Nach wiederholtem oberflächlichen Abspülen kommen sie in 0,02 %ige Chromsäure, in welcher bei Lichtabschluss die Reduktion in etwa 24 Stunden vor sich geht. Behufs Entfernung des in den Geweben reichlich gebundenen, aber noch nicht reducirten Goldes zerlegt man am besten die Gewebsstück-

chen mittels des Gefriermikrotoms in 30—50 μ dicke Schnitte, trocknet dieselben auf dem Objektträger an und setzt sie der Einwirkung einer starken Lösung von Natriumhyposulfit aus. Nachher werden sie gut gewaschen, nochmals getrocknet und direkt in Balsam eingeschlossen.

So behandelte Schnitte zeigen neben den markhaltigen Nerven noch das Stratum granulosum der Epidermis und das Fettgewebe in einer dunkelblaugrünen bis bläulich schwarzen Farbe auf einem farblosen oder blassgelben Grunde. Die entstehende Färbung ist eigentlich eine Niederschlagsfärbung, weil hier das Gold in einzelnen Körnchen von etwa 0,3 μ Grösse sich niederschlägt.

Apáthy [49]) führt zur Untersuchung des leitenden Elementes des Nervensystems zwei Methoden der Vergoldung an; die eine nennt er Vorvergoldung, die andere Nachvergoldung. Die erste beruht auf der Vergoldung frischer, die zweite auf der Vergoldung schon fixirter Gewebe.

a) Vorvergoldung: Das frische Objekt kommt im Dunkeln in eine 1%ige Lösung von Aurum chloratum flavum auf mindestens zwei Stunden, sehr dünne Membranen länger bis über Nacht; dann direkt auf 2 Stunden in eine 1%ige Ameisensäurelösung. In derselben soll das Objekt 6—8 Stunden lang ununterbrochen von allen Seiten belichtet werden. Die Ameisensäurelösung kann nach der ersten Stunde, wenn sie dunkel geworden ist, durch eine frische Flüssigkeit ersetzt werden, wobei jedoch das Objekt so wenig wie nur möglich zu bewegen ist. Die Säure kann nachher ausgewaschen werden.

Das Objekt wird direkt in koncentrirtes Glycerin oder Gummisyrup eingeschlossen, kann aber auch in Balsam eingelegt werden.

Diese Behandlung giebt auch an einem bereits länger todten, ja sogar an einem tagelang macerirten Material gute Resultate.

b) Nachvergoldung. Dieses Verfahren ist nichts anderes als die im Jahre 1893 von demselben Autor (siehe Nr. 46) für Muskelfibrillen angegebene, jedoch weiter entwickelte Methode.

Für diese Methode ist fixirtes Material erforderlich. Die Gewebe der Wirbellosen werden 16—24 Stunden lang (dünne Membranen 4—5 Stunden) in Sublimat (koncentrirte Lösung in 0,5%iger Kochsalzlösung) oder höchstens halb so lang in Sublimatalkohol (obige Sublimatlösung und Alkohol absolutus zu gleichen Theilen) fixirt. Bei Wirbelthieren giebt ein in einem Gemisch von gleichen Theilen einer 1%igen Osmiumsäure und einer koncentrirten Sublimatlösung in ½%iger Kochsalzlösung fixirtes Material, welche Lösungen unmittelbar vor dem Gebrauche miteinander zu mischen sind, die besten Resultate. Die Einwirkungsdauer sei hier dieselbe, aber man wasche die Objekte nachher mindestens 6 Stunden lang in fliessendem Wasser, und die ganze Behandlung muss bis zum Einbetten in Paraffin bei sorgfältigem Lichtabschluss geschehen, damit die Osmiumsäure möglichst wenig bräune. Dann werden die Objekte mit wässeriger Lösung von Jodjodkalium (1% KJ und ½% J) 6—8 Stunden lang ausgewaschen und in 95%igem oder stärkerem Alkohol über Nacht gelegt. Der Rest des Sublimates wird aus den Geweben in einer alkoholischen Lösung von Jod und Jodkalium (½% J und 1% KJ in 95%igem Alkohol) entfernt, bis das Objekt durch und durch gelb geworden ist; dann Alkohol absolutus, reines Chloroform (oder 4 Theile Chloroform und 1 Theil Aethyläther) und Paraffin oder Einbettung in Celloidin.

Die mit Wasser oder Eiweisswasser aufgeklebten Paraffinschnitte oder die nach der Bergamottmethode aufgeklebten Celloidinschnitte gelangen durch die üblichen Medien in destillirtes Wasser, wo sie 2—6 Stunden bleiben, oder man stellt sie nach Abspülen in destillirtem Wasser in eine 1%ige Ameisensäurelösung auf 1 Minute, spült sie wieder gut in H_2O ab und kann sie

sofort weiter behandeln. Es werden nämlich die Objektträger in Tuben in eine 1%ige Lösung von Aurum chloratum flavum auf 24 Stunden, mindestens über Nacht hineingestellt. Dann kurzes Eintauchen in destillirtes Wasser oder nur Abwischen der Goldlösung mit Filtrirpapier von dem Objektträger und Aufstellen der einzelnen Objektträger in mit 1%iger Ameisensäurelösung gefüllte Glastuben, in der Weise, dass die Schnitte nach unten schauen.

Jetzt sollen die Präparate sofort von allen Seiten durchlichtet werden und nach beendeter Belichtung oder erst nach 24 Stunden werden sie in destillirtem Wasser abgespült und in koncentrirtes Glycerin, Gummisyrup oder Balsam eingeschlossen.

Die Schnitte können noch vor dem Einschluss in beliebiger Weise (am besten in einer Hämateïnlösung) nachgefärbt werden.

Das genaue Verfahren bis zum Einbetten soll möglichst kurz dauern, da sonst die Neurofibrillen die Fähigkeit der Differenzirung bald einbüssen.

In Paraffin halten sich die Objekte unbegrenzt lange, in Celloidin jedoch nur dann, wenn die Celloidinblöcke in Glycerinleim aufgehoben werden.

Von den Vormedien der Paraffineinbettung darf nur Chloroform gebraucht werden.

Die Differenzirung des Leitenden gelingt am besten, wenn die Schnitte 7—10 μ dick sind.

Zettnow[50]) bedient sich unter anderem auch der Goldmethode zum Zwecke der Geisselfärbung bei Bakterien.

Die mit Formol fixirten und entsprechend gebeizten Bakterienpräparate werden nämlich in neutraler Goldchloridlösung 1 : 2000 bis zur kräftigen Dampfbildung erwärmt. Sind die Geisseln zu schwach gefärbt, so kann das Präparat auf folgende Weise verstärkt werden:

Auf das gut abgespülte Goldpräparat kommen 4 Tropfen Pyrogallollösung (2 Grm. Citronensäure in 150 Ccm. Wasser gelöst, dazu 0,5 Grm. Pyrogallol und — gegen Schimmelbildung — ein Stückchen Thymol) und ein Tropfen 1%iger Silbernitratlösung. Nach einer Minute Abspülen und noch einmal wiederholen.

Fajersztajn[51]) gebraucht (ähnlich wie Obregia siehe Nr. 40) zur Differenzirung und Fixirung des nach specieller Methode entstandenen Silberniederschlages in den Achsencylindern eine 0,3%ige Chlorgoldlösung, von der 1—3 Tropfen in ein 10—15 Ccm. Alkohol (96%ig) enthaltendes Schälchen gebracht werden. Nach 12—24stündigem Verbleiben (im Dunkeln) der Schnitte in dieser Flüssigkeit werden die Achsencylinder schwarz oder tiefbraun. Dann können die Präparate in der gewöhnlichen Weise in Kanadabalsam unter dem Deckglas aufbewahrt werden.

* * *

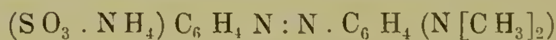
Unsere Zusammenstellung der Goldmethoden hat keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Wenn wir die hier angeführten Methoden in Betracht ziehen, ersehen wir, dass der überwiegende Theil derselben für periphere Nervenendigungen, ein Theil zum Nachweis des Nervenfasernverlaufs in Centralnervenorganen und blos einige zu anderen Zwecken dienen.

Die meisten von den erwähnten Methoden können den von Apáthy sogenannten Vorvergoldungen, ein kleinerer Theil dagegen den sogenannten Nachvergoldungen beigezählt werden; bei einigen Methoden geht dagegen gleichzeitig mit der Fixirung der Gewebe (z. B. mittels der Osmiumsäure) auch ihre Färbung mit einem Goldsalze vor sich.

Litteratur: [1]) Cohnheim (Virch. Arch., Bd. 38, 1867), [2]) Arnold (ebenda, Bd. 41, 1867), [3]) Courvoisier (Centr. med. Wiss., 1867), [4]) Bastian (cit. nach Gierke [Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884]), [5]) Nathusius (Arch. Anat., 1869), [6]) Joseph (Arch. mikr. Anat., Bd. 6, 1870), [6a]) Heitzmann (Wien. med. Jahrb., 1872), [7]) Gerlach (in Stricker's Handbuch der

Lehre von den Geweben, Leipzig 1871), [8]) HÉNOCQUE (Arch. de l'Anat. Phys., 1870), [9a]) KLEIN (Centr. med. Wiss., 1871), [9b]) derselbe (Quart. Journ. micr. Sc., Bd. 11 u. 12, 1871), [10]) CHRSCHTSCHONOVITSCH (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 63, 1871), [11]) BOLL (Arch. Psych., Bd. 4, 1873), [12]) HOYER (Arch. mikr. Anat., Bd. 9, 1873), [13]) NESTEROWSKY (VIRCH. Arch., Bd. 63, 1875), [13a]) LAWDOWSKY (cit. nach GIERKE [Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884]), [14]) LÖWIT (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 71, 1875), [15a]) FISCHER (Arch. mikr. Anat., Bd. 12, 1876), [15b]) derselbe (ebenda, Bd. 13, 1877), [16]) THIN und EWART (Journ. of Anat. Phys., Bd. 10, 1876), [17]) ARNSTEIN (Sitz. Ak. Wiss., Bd. 74, 1876), [18]) FLECHSIG (Die Leitungsbahnen im Gehirn und Rückenmark des Menschen, Leipzig 1876), [19]) RANVIER (Traité téchnique, I. Ed., 1875—1882), [20]) GOLGI (Mem. R. Acc. Sc. Torino, Bd. 32, 1880), [21]) RETZIUS (Biol. Unter. Jahrg. 1881), [22]) CARRIÈRE (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [23]) MARCHI (Arch. Ophth., 28. Jahrg., Bd. 1, 1882 und Arch. per le Sc. med., Bd. 5, 1882), [24]) BREMER (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [25]) CIACCIO (Rend. Acc. Sc. Ist., Bologna 1882 und Arch. ital. Biol., Bd. 3, 1883 und Journ. de Micrograph., Bd. 7, 1883), [26]) GRUENHAGEN (Arch. Mikr. Anat., Bd. 22, 1883), [27]) CYBULSKI (Zeit. wiss. Zool., Bd. 39, 1883), [28]) VIALLANES (Ann. Sc. nat., Bd. 14, 1883), [29]) FREUD (Arch. Anat., 1884 und Centr. med. Wiss., 1884 und Brain, Bd. 7, 1884), [30]) MAYS (Zeit. Biol., Bd. 20, 1884), [31]) MIURA (VIRCH. Arch., Bd. 97, 1885), [32]) BOCCARDI (Lav. Ist. fisiol., Napoli, Bd. 1, 1886), [33]) DELAGE (Arch. Zool. expér., Ser. 2, Bd. 4, 1886), [34a]) DRASCH (Sitz. Ak. Wiss. Wien, 1881), [34b]) derselbe (ebenda, 1884), [34c]) derselbe (Sitz. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 14, 1887), [35]) GRIEB (Mem. Soc. Ital. Sc. [3], Bd. 6, 1887), [36]) KÜHNE (Zeit. Biol., Bd. 23, N. F., Bd. 5, 1887), [37]) KOLOSSOW (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [38]) CATTANEO (Arch. ital. Biol., Bd. 10, 1888), [39]) MERCIER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), [40]) OBREGIA (VIRCH. Arch., Bd. 122, 1890), [41]) ZIEHEN (Neurol. Centr., Bd 10, 1891), [42]) PIANESE (Giorn. intern. Sc. Med. Napoli, Jahrg. 14, 1892), [43]) BERNHEIM (Arch. Physiol. 1892, Suppl.), [44]) LEPKOWSKI (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), [45]) GEBERG (Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 10, 1893), [46]) APÁTHY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [47]) PFEIFFER VON WELLHEIM (PRINGSHEIM'S Jahrb. wiss. Bot., Bd. 26, 1894), [48]) FREY (Arch. Anat., 1897, Suppl.), [49]) APÁTHY (Mit. zool. St. Neapel, Bd. 12, 1897), [50]) ZETTNOW (Zeit. Hyg., Bd. 30, 1899), [51]) FAJERSZTAJN (Neurol. Centr., Bd. 20, 1901). *Szymonowicz*, Lemberg.

Goldorange, Syn. Helianthin, Tropaeolin D, Orange III, Azofarbstoff, das Natriumsalz des Sulfanilsäure-azo-dimethylanilins:



$$(S\,O_3\,.\,N\,H_4)\,C_6\,H_4\,N:N\,.\,C_6\,H_4\,(N\,[C\,H_3]_2)$$

(Ludwigshafen). Ockergelbes, in Wasser und Alkohol lösliches Pulver. In Schwefelsäure mit brauner Farbe löslich, beim Verdünnen schlägt die Farbe in roth um. Die wässerige Lösung färbt sich mit Salzsäure roth, mit Natronlauge entsteht ein brauner Niederschlag. Färbt Baumwolle nach Behandlung mit zinnsaurem Natron oder Alaun, Wolle in schwefelsaurem Bade orangeroth.

Von GRIESBACH in die Mikrotechnik eingeführt, ist es in nicht zu dünner wässeriger Lösung besonders zur Färbung von Drüsen empfohlen worden. BERGONZINI hat das Orange G in der EHRLICH-BIONDI'schen Lösung durch Goldorange ersetzt. Er löst je 0,2 Grm. Methylgrün, Fuchsin S und Goldorange in 100 Wasser, mischt dann einen Theil der Fuchsinlösung mit je zwei Theilen Methylgrün und Goldorangelösung. Die Mischung wird durch Baumwolle filtrirt und ist lange haltbar. Es färben sich die Kerne grün, Bindegewebe roth, Erythrocyten orange, Granulationen der Mastzellen je nach ihrem Charakter grün, roth oder orange.

Litteratur: GRIESBACH (Arch. mikr. Anat, Bd. 22, 1883), BERGONZINI (Anat. Anz., Bd. 6, 1891).

Golgi'sche Methode.

I. Zur Theorie der Golgi'schen Methode.

Unter der Bezeichnung »GOLGI'sche Methode« (reazione nera) versteht man die Behandlung von Organen oder Geweben mit einer Lösung von doppeltchromsaurem Kali, so dass diese mehr oder weniger damit durchtränkt werden und dann nach dem Einlegen in bestimmte Silberverbindungen (oder eine Lösung von Hydrargyrum bichloratum) an gewissen histologischen Elementen einen äusserst feinkörnigen Niederschlag erhalten, der aus einer Chromsilberverbindung (Chromsublimatverbindung) besteht und der diese Elemente vor anderen nicht gefärbten besonders deutlich werden lässt. Das Sonderbare und Charakteristische bei diesem Vorgang ist weiterhin, dass

in dem ganzen so behandelten Präparat nicht alle Gewebselemente derselben Klasse zugleich gefärbt werden, sondern nur einige wenige, und dass sich die Färbung fast nie auf eine Gewebsart oder Zellart beschränkt, sondern dass fast immer mehrere genetisch und histologisch verschiedene Gebilde von ihr beeinflusst werden. So werden z. B. in einem Stück Gehirn neben nervösen Elementen Gefässe, Neuroglia und Bindegewebsfasern, in einer Drüse Sekretkapillaren, Epithelgrenzen und Nervenfasern imprägnirt.

Neben den Niederschlägen, die sich an histologisch präformirte Bildungen halten, kommen fast immer auch solche Niederschläge vor, die keine Beziehung zu histologischen Elementen erkennen lassen, die man meist als störende Niederschläge bezeichnet hat. Sie sind in der That in verschiedener Hinsicht störend. Einmal können sie die Färbung der histologischen Details direkt verdecken, andererseits können sie die absonderlichsten Formen annehmen, so dass sie Bildungen vortäuschen, die in Wirklichkeit strukturell nicht vorhanden sind.

Aus allen diesen erwähnten Besonderheiten der Methode hat man ihr schwere Vorwürfe gemacht und hat deswegen gemeint, sie wäre gefährlich und überhaupt nicht geeignet, uns eine Anschauung von dem wahren Verhalten des Baues der Organe etc. zu geben. Man hat gerathen, nur das an den Golgi'schen Bildern zu glauben, was andere Methoden auch zeigen. Dieser Skepticismus ist zu weitgehend: dann brauchte man ja überhaupt keine neuen Methoden, während doch die Geschichte zeigt, dass neue Methoden wirklich epochemachende Bedeutung haben können, und die hat in der That die Golgi'sche, deren Resultate zum Theil wenigstens Allgemeingut der Wissenschaft geworden sind; das braucht nur angedeutet zu werden, denn die Erfolge und Errungenschaften, die wir der wunderbaren Methode verdanken, gehören nicht hierher.

Ein weiterer recht eigenartiger Vorwurf ist ihr gemacht worden, indem man sagte, dass man an den vollständig schwarz gefärbten oder unter dem Mikroskope schwarz erscheinenden Nervenzellen z. B. keine histologischen Details erkennen könne. Gewiss nicht. Aber verurtheilen wir die Weigert'sche Markscheidenfärbung, weil sie nicht auch die Achsencylinder oder die Ganglienzellen färbt, oder die Elastinfärbung, weil sie nicht auch die Kerne deutlich macht? Hat denn je ein Mensch gesagt, dass die Golgi'sche Methode andere Methoden entbehrlich macht? Man kann gerade dieser Reaktion Einseitigkeit gewiss nicht vorwerfen, denn, wie wir sehen werden, giebt es kaum eine andere Methode, die so vielseitig ist. Man darf doch billigerweise nicht alles von ihr verlangen. Zu tadeln sind nur die einseitigen Anwender der Methode, an denen es freilich nicht gefehlt hat, wenn sie auch gegenüber denen, die sie planmässig als ein Hilfsmittel neben vielen anderen benutzt haben, verschwindend wenige sind.

Die weiteren Vorwürfe, die der Reaktion gemacht sind, betreffen ihre Launenhaftigkeit und die Schwierigkeit, Kunstprodukte von den naturwahren Bildern zu unterscheiden. Ueber die Launenhaftigkeit werden sich im allgemeinen nur die zu beklagen haben, die mehr gelegentlich sich mit der Methode befasst haben; wir werden bei der Beschreibung der verschiedenen Operationen darauf zurückkommen.

Niederschläge verschiedenster Art finden sich freilich in den Präparaten oft. Ich glaube aber, dass bei sorgfältigem Beobachten und bei Rücksichtnahme auf die verschiedenartigen Modifikationen der Methode das Wesentliche, d. h. das, was die Form der Elemente richtig wiedergiebt, ziemlich sicher von den Trugbildern unterschieden werden kann. Friedländer hat in Substanzen, die sicher nicht diese Struktur hatten, z. B. in Eiweiss, Käse, Celloidin etc., dendritenartige Bildungen nach der Golgi'schen Methode erhalten. Bei Betrachtung der von ihm abgebildeten Niederschläge glaube

ich so gut wie sicher angeben zu können, dass niemand derartiges für Nervenfortsätze oder dergleichen mehr halten wird. Wenn das nach dem Bilde schon gesagt werden kann, wie viel leichter wird die Entscheidung an den Präparaten gegeben werden können.

Dass eine gewisse Vorsicht bei der Beurtheilung der GOLGI'schen Präparate nothwendig ist, wird jeder zugeben müssen; dass mancher Untersucher, der weder in der Histologie überhaupt noch in den Bildern, die die verschiedensten Methoden bieten, bewandert ist, grobe Fehler auch mit der GOLGI'schen Methode wird begehen können, wird niemand leugnen, aber soll das der Methode zur Last gelegt werden? Die groben Niederschläge, die meist typische Krystallformen von doppeltchromsaurem Silber zeigen, werden natürlich niemals dem Erkennen Schwierigkeiten machen; bald wird man mit der nöthigen Beobachtungsgabe auch Dendritenformen, wie sie FRIEDLÄNDER abgebildet hat, und wie sie eben in allen möglichen Organen vorkommen können, richtig würdigen lernen, so dass derartige Vorwürfe absolut unberechtigt sind. Aber alle diese Bedenken sind es, die in neuerer Zeit ein gewisses Vorurtheil gegen diese Methode haben aufkommen lassen, das bei ihrer Vorzüglichkeit gewiss ungerechtfertigt ist, das auch nur so zu erklären ist, dass sich jetzt eine Reaktion gegen die aus der GOLGI'schen Methode gezogenen Theorien geltend gemacht hat, die theilweise wohl berechtigt ist, doch nicht so weit in Urtheil gehen darf, dass die Theorie der Methode als solcher zur Last gelegt wird. Die Errungenschaften der GOLGI'schen Methode sind auf den verschiedensten Gebieten so ausserordentliche, wie sie kaum eine andere Methode aufzuweisen hat; dass sie noch keine historische Methode geworden ist, dass sie immer noch manche Aufgabe zu lösen berufen sein wird, ist gewiss.

Viel beschäftigt hat die Autoren die Frage, wie die Bilder der Färbung zustande kommen, wie die Zusammensetzung des Niederschlages ist, wo er sich befindet, und woher es kommt, dass die Methode so elektiv ist, dass nur wenige Zellen z. B. aus einer ganzen Gruppe reagiren.

Dass der Niederschlag aus doppeltchromsaurem Silber (Ag_2CrO_4) besteht, ist a priori unwahrscheinlich, da immer $AgNO_3$ im Ueberschuss vorhanden ist. Dazu kommt, dass das Kaliumbichromat sicher nicht als leicht und vollkommen auswaschbare Substanz in den Präparaten vorhanden ist, wie FICK meint, sondern dass es Verbindungen mit den eiweisshaltigen Theilen der Organe eingeht, eine Eigenschaft des Salzes, die nicht unbegreiflich ist, da wir die Verbindungen dieser Substanz mit anderen organischen Produkten wenigstens aus ihren Wirkungen z. B. bei den photo-mechanischen Reproduktionsverfahren kennen. Dass das Silber in Metallform in den fertigen Präparaten vorhanden sei, ist deswegen nicht möglich, weil der Niederschlag in H_3N und unterschwefligsaurem Natron vollständig löslich ist. Die in der Litteratur fast allgemein angenommene Meinung, dass der Niederschlag aus doppeltchromsaurem Silber besteht, kann man aber meiner Ansicht nach nicht aufrecht erhalten, da wir, wie eben ausgeführt, als wahrscheinlich annehmen müssen, dass das Bichromat theilweise wenigstens an Eiweissmoleküle gebunden ist. Und ich glaube, dass der Niederschlag in einer Eiweisssilberchromatverbindung besteht, über deren Zusammensetzung natürlich nichts ausgesagt werden kann, da wir die Art der Bindung des Chromates an die Eiweisstheile nicht kennen. Es ist auch wahrscheinlich, dass diese Eiweisschromate je nach der verschieden langen Einwirkungsdauer verschiedene Zusammensetzung haben, dass zum Zustandekommen des Niederschlages vielleicht ganz bestimmte mehr oder weniger vollständige Bindungen des Eiweisses mit dem Bichromat vorhanden sein müssen, die dann z. B. erklären würden, warum bei Ueberhärtung, d. h. zu voll-

ständiger Sättigung der Verbindung keine oder nur unvollständige Niederschläge gebildet werden. Diese Vorstellung, die natürlich nur im grossen und ganzen die Eigenarten der GOLGI'schen Methode verständlich macht, wird dadurch fernerhin gestützt, dass wir andererseits organische Silberverbindungen kennen, die mit Bichromaten keinen Niederschlag geben; sie könnte dann auch eine Vorstellung davon geben, warum die Färbung eine elektive ist, d. h. warum immer nur einige Gruppen von Zellen etc. gefärbt werden und warum das Material ganz frisch sein muss. Es kann der Niederschlag eben nur bei einer ganz bestimmten Chromeiweissverbindung eintreten*, die infolge unbekannter Reaktionen nur frische und unter diesen auch nur in einem bestimmten Zustande befindliche Eiweissmoleküle besitzen. Durch die kadaverösen Veränderungen etc. könnten die Eiweisstheile so verändert werden, dass sie nicht mehr die für den Niederschlag günstige Chromatverbindung eingehen können. Müssen wir doch nach unseren allgemeinen Anschauungen annehmen, dass das lebendige Eiweiss eine andere chemische oder chemisch-physikalische Beschaffenheit hat als eben abgestorbenes.

Unter Umständen gelingt freilich die Reaktion auch noch längere Zeit nach dem Tode, aber daraus können wir nicht unbedingt einen Beweis entnehmen gegen die eben erwähnte Anschauung. Man weiss ja nicht, wie nach dem Tode die Zellen reagiren, und ob unter den Absterbeveränderungen nicht gerade welche sind, die für die geeignete Verbindung günstig sind.**

Die Einwirkung des Lichtes ist für das Zustandekommen der Imprägnirung vollkommen irrelevant, wie die Versuche von HILL beweisen, der ein Gehirn in zwei Hälften theilte, die eine Hälfte unter vollkommenen Ausschluss des Lichtes, die andere Hälfte bei Zutritt des direkten Sonnenlichtes nach GOLGI behandelte; beide Hälften zeigten keine principiellen Unterschiede in der Imprägnation der Zellen und Fasern.

WEIGERT meint, dass die grosse Unregelmässigkeit in der Färbung in einer Unregelmässigkeit beim Eindringen der für die Imprägnation erforderlichen Flüssigkeiten zu suchen sei. »Von den beiden für die Imprägnirung erforderlichen Substanzen kann meines Erachtens nur das Silber, resp. Quecksilber für die Unregelmässigkeit im Eindringen verantwortlich gemacht werden. Das doppeltchromsaure Kali dringt zwar nicht gerade sehr rasch, aber doch sehr regelmässig in die Organe ein. Vom Silber hingegen wissen wir, dass es sehr schwer in die Organstücke eindringt, selbst dann, wenn diese vorher nicht mit Chrom gebeizt waren. War das aber auch noch der Fall, so kommt als erschwerendes Moment noch das hinzu, dass dann die Silberlösung noch eine Schicht von Chromsilberniederschlägen zu passiren hat, ehe sie überhaupt erst an die Oberfläche der Organstücke selbst gelangt.«

»Solche Chromsilberniederschläge bilden sich aber immer, wenn auch an den verschiedenen Stellen der Oberflächen in sehr wechselnder Dicke und Dichte. Je nachdem nun an einer Stelle die Niederschläge mehr oder weniger stark angehäuft sind, kann das Silber mehr oder weniger leicht an das Organ, das es imprägniren soll, herangelangen. Schon hierdurch ist

* WEIGERT, der offenbar ähnliche Vorstellungen hat, sagt allerdings ziemlich unbestimmt, das Material oder die Zelle, die sich färbt, müsse »reaktionsfähig« sein.

** SMIDT meint, dass es sich in der GOLGI'schen Methode um keine chemische, sondern um eine galvanische Reaktion der gefärbten Elemente handle. Da sich nach L. HERMANN absterbender Nerveninhalt negativ zum ruhenden, normalen verhalte, so wirke dieser als Kathode für das abgeschiedene Silber, das sich bei der Elektrolyse ja an der Kathode niederschlägt. Es scheint mir zu vieles gegen die Anschauung zu sprechen, als dass hier näher darauf eingegangen werden kann. Dass physikalisch-chemische Processe hier mitwirken, ist freilich nicht ausgeschlossen, denn wo ist die Grenze dieser beiden Kräfte?

es erklärlich, dass die Silberlösung in unregelmässigen Strömungen in die Tiefe vordringen kann. Hierzu kommt aber noch, dass die Organe selbst gewiss kein so einheitliches Gefüge haben, wie es nöthig wäre, wenn die imprägnirende Flüssigkeit sie ganz gleichmässig und regelmässig durchdringen sollte.«

Wie die Organe verschiedener Thiere auf die Golgi'sche Methode verschieden reagiren, indem manche wegen ihres lockereren Baues besser gefärbt werden und embryonale Organe deswegen vor allem für die Methode besonders geeignet sind, so dürften auch, wie Weigert meint, in jedem Organ Stellen mit lockererem und solche mit festerem Gefüge vorkommen.

»Nehmen wir aber,« fährt Weigert fort, »ein unregelmässiges Eindringen der Lösungen an, so genügt das vollkommen zur Erklärung dafür, dass auch die Imprägnirung in so unregelmässiger Weise erfolgt. Es hängt eben ganz vom Zufall ab, ob ein solcher Silberstrom gerade auf eine mit Chrom gebeizte Zelle trifft, oder ob er an ihr vorübergeht.«

Gewiss ist es wahrscheinlich, dass das Silber unregelmässig eindringt. Ich kann mir aber nicht vorstellen, wie dies allein genügen soll, die Unregelmässigkeit der Imprägnation zu erklären, denn schliesslich kommt doch die Silberlösung an alle Stellen des Organstückchens, und da hängt es denn vielleicht doch, wie ich oben ausführte, von dem betreffenden Beizzustande der Zelle ab, wie sie dem Strom des Silbers gegenüber reagirt.

Noch ist von einer ganz besonders eigenthümlichen Wirkungsweise der Golgi'schen Methode zu reden.

Es imprägniren sich mit ihr nicht unregelmässig hier und da ganz beliebige Bruchstücke von Zellen, sondern meistens wird z. B. eine einzige Zelle aus einer grösseren Gruppe ganz allein mit allen ihren Fortsätzen, Neuriten, Kollateralen etc. vollständig gefärbt. Dies ist für die Anschaulichkeit der Bilder von grösstem Vortheil und diese Thatsache ist ja auch ganz besonders für die Theorie ausgebeutet worden. Weigert erklärt diese Eigenthümlichkeit in folgender Weise. »Wenn die Silberlösung in den erwähnten unregelmässigen Bahnen ins Gewebe vordringt, so trifft sie dabei zunächst allerdings auf ein ganz beliebiges Strukturelement, das für die Reaktion empfänglich ist und nun durch das entstehende amorphe Chromsilber geschwärzt wird. Kommt nun noch weitere Silberlösung in diese selbe Gegend, fliessen hier vielleicht ursprünglich getrennte Silberströme zusammen, so kann diese weitere Silberlösung auch zu weiteren Niederschlägen verwendet werden. Wir wissen aber, dass neu entstehende Niederschläge die Tendenz haben, an schon vorhandene ähnliche anzuschiessen. Setzen wir das auch hier voraus, so fragt es sich, wo wird das Anschiessen dieser sekundären Niederschläge an die primären vor sich gehen? — Nur in den für die Reaktion geeigneten Bestandtheilen! Diese müssen aber weiter, wenn sie zu sekundären Anschiessungen an die primären Niederschlagscentren geeignet sein sollen, mit jenen primären Centren in einem Kontiguitätsverhältnisse stehen. Ist also zuerst ein Stückchen von einer Ganglienzelle zufällig primär geschwärzt, so müssen sekundäre Niederschläge bei weiterem Zutritt von Silberlösung in dem übrigen Theile der Ganglienzelle, resp. in ihren Ausläufern entstehen.« So kann dann ein vollständiges Neuron ganz allein gefärbt werden.

Diesen Vorgang kann man übrigens, wie auch Golgi erwähnt hat, bei der langsam wirkenden Sublimatmethode beobachten, wenn man von Zeit zu Zeit Schnitte von den in der Imprägnirung begriffenen Organen macht.

Eine gewiss nicht unwichtige weitere Frage ist die: wo befindet sich der Niederschlag, der z. B. eine Nervenzelle oder eine Faser färbt? Rossbach und Sehrwald haben die scheinbar paradoxe These aufgestellt: die Golgi-

sche Methode sei keine Methode, Ganglienzellen und ihre Fortsätze zu färben, sondern sie sei eine Methode, durch die die lymphefühirenden Bahnen und Räume des Gehirns mit amorphen oder krystallinischen Massen erfüllt und dadurch auf das deutlichste sichtbar gemacht werden. Die Launenhaftigkeit der Methode erkläre sich ganz einfach durch die verschiedene Weite und Füllung dieser Räume durch Lymphe. Die Färbung trete am sichersten bei mittlerer Füllung der Räume ein. Dass diese Annahme nicht richtig sein kann, leuchtet bei kurzer Ueberlegung ein, denn mit anderen Methoden als mit den GOLGI'schen sind diese »Lymphräume« nicht darstellbar, und viele andere Gewebe, ausser den Nervenzellen, die auf GOLGI reagiren, enthalten sicher an den Stellen keine Lymphräume. Dann müssten trotz der Einwände von KRONTHAL, wie BELMONDO ganz richtig hervorhebt, oftmals die Schnitte durch Ganglienzellen schwarze Ringe mit heller Mitte zeigen. Nach allen zahlreichen Erfahrungen und in Uebereinstimmung mit der oben gegebenen Theorie von der Zusammensetzung des Niederschlages kann man meiner Meinung nach gar nicht daran zweifeln, dass die Zellen etc. in Substanz gefärbt werden.

JUSCHTSCHENKO, dessen Anschauungen jedenfalls auch durch die SEHRWALDschen Vorstellungen beeinflusst sind, der aber den präexistirenden Lymphraum leugnet, meint, dass die Bichromatmischung eine Schrumpfung der Elemente bedinge, so dass um sie herum ein feiner Spaltraum entsteht, in dem sich dann das Silber niederschlägt; ebenso sollen in der Zelle Spalträume entstehen, die mit dem Silberniederschlag angefüllt werden. Die ungleichmässige Schrumpfung hält er für eine wichtige Vorbedingung zur Entstehung eines Niederschlages.

KRONTHAL hat ferner nachgewiesen, dass die imprägnirten Zellen grösser sind als die nicht imprägnirten. Er hat eine imprägnirte Zelle entfärbt und dann mit Methylenblau nachgefärbt, dabei fand er, dass diese letztere Zelle kleiner ist als erstere. Obgleich mir bei dieser Methode nicht absolut ausgeschlossen zu sein scheint, dass die Zelle nicht noch nachträglichen Schrumpfungen bei der angegebenen Behandlungsmethode ausgesetzt ist, scheint mir die zugegebene Grössenzunahme der Zelle durchaus nicht die Berechtigung zu liefern, annehmen zu müssen, dass diese ein Beweis wäre für das Vorhandensein des von SEHRWALD und ROSSBACH angenommenen Lymphraumes. Es ist sehr wohl verständlich, wie auch WEIGERT und ZIMMERMANN annehmen, dass die Niederschläge etwas über die Grenze des Zellleibes hinausgehen. Viele Gebilde, die an sich selbst sehr zart und dünn sind, zeigen aber auch nicht die Spur derartiger Vergröberungen, wenigstens nicht, wenn die Reaktion in vollendeter Weise vor sich gegangen ist.* Bei zu langer Einwirkung der Reagentien kann sehr wohl eine Klumpenbildung etc. an feinen Nervenfasern etc. eintreten, die bei guter Reaktion vermieden wird. Auch eines weiteren Umstandes, den WEIL und FRANK hervorgehoben haben, müssen wir hier gedenken. Diese Forscher fanden nämlich, dass bei der Anwendung der verschiedenen Golgimethoden (cf. unten) die Fortsätze der Zellen verschieden aussehen, z. B. mit kleinsten dornenartigen Fortsätzen besetzt oder ziemlich glatt sind. Alle diese Umstände sind zu berücksichtigen und in ihnen liegt eine gewisse Gefahr, da man nun einmal um die schon oben erwähnte Thatsache nicht herumkommt, dass zur Beurtheilung der Golgibilder eine gewisse Erfahrung nothwendig ist, wenn man vermeiden will, Unwesentliches für etwas Wichtiges und Ausschlaggebendes zu halten. Ich glaube aber auch zugleich, dass ein aufmerksamer Beobachter nicht Gefahr laufen wird, diesen Zufälligkeiten der Methode zum Opfer zu fallen.

* Dies hatte auch KÖLLIKER schon hervorgehoben.

Ein nicht zu verkennender Nachtheil haftet der Methode nun insofern an, als es unmöglich ist. die mit der Silbermodifikation hergestellten Präparate und Schnitte so wie gewöhnliche Schnitte in Balsam unter dem Deckglase aufzubewahren. Wenn man auf diese Weise die Präparate zurecht macht. dann zeigt sich sehr bald, dass sie verderben, so dass sie zum weiteren Studium so gut wie unbrauchbar werden.

Samassa nimmt an, dass durch die Diffusionsströme die doppeltchromsauren Silbertheile aus dem mit dem Deckglas bedeckten Präparat an den Stellen, wo sie ursprünglich liegen, herausgeschwemmt werden. Wenn die Präparate ohne Deckglas aufgehoben werden, wie Golgi angab (cf. unten), sind die Diffusionsströme sehr viel schwächer und haben diese zerstörende Kraft nicht.

Dagegen macht Fick gewiss mit Recht geltend, dass, wenn die Stärke des Diffusionsstromes gleich dem Produkt aus der Diffusionskonstante und der Koncentrationsabnahme der beiden benachbarten Schichten ist, die Stärke bei unbedeckten Präparaten grösser sein muss als bei bedeckten, erstere also unbedingt eher verderben müssten, was den Thatsachen eben nicht entspricht. Fick hat dann ferner auf die durchaus richtige Thatsache aufmerksam gemacht, dass das Verderben der Präparate nicht in einer Entfärbung der Zellen etc. besteht, sondern dass eine »Verfärbung« platzgreift, die darin besteht, dass die Umgebung des Silberniederschlages diffus gelb bis gelbbraun gefärbt erscheint, als wenn die Niederschläge zerflossen wären. Feuchte Luft begünstigt ebenso wie Lichteinfluss das Verderben. relative Trockenheit und Aufbewahren der zugedeckten Präparate in der Dunkelkammer verhindert den Ruin der Schnitte aber nicht.

Dagegen kann ein in Lack eingeschlossenes Präparat durch Erhitzen vorsichtig vollkommen entwässert werden, und wenn der Lack ganz trocken geworden ist, kann es, ohne Schaden zu nehmen, mit einem Deckglas bedeckt werden (cf. unten die Angaben von Huber). Deswegen nimmt Fick an, dass minimale Wasserreste, die natürlich immer in den Schnitten zurückbleiben und bei gedeckten Präparaten nicht verdunsten können, aber wohl bei ungedeckten, den Niederschlag lösen, zum Zerfliessen bringen und so das Präparat verderben.

II. Allgemeine Technik der Golgi'schen Methode.

a) Angaben von Golgi.

Im Anfange der Siebzigerjahre des neunzehnten Jahrhunderts hat Golgi seine Methode angewendet und publicirt. Die genaueren Angaben stammen vom Jahre 1873. Dann hat er bei vielen späteren Gelegenheiten weitere Vorschriften gegeben.

Die Methode wurde schon von Golgi in verschiedenen Modifikationen benutzt, die man gruppiren kann: 1. als die Silbermethode, 2. als die Sublimatmethode. Damit ist die Lösung zugleich bezeichnet (Argentum nitricum. Hydrargyrum bichloratum corrosivum), die zur Bildung des Niederschlages benutzt wird, während die beizenden oder härtenden Mischungen immer Kali bichromicum oder ein ähnlich wirkendes Chromsalz (cf. pag. 479) enthalten müssen. Die Silbermethode erleidet wiederum einige Abänderungen, indem sie entweder als langsame, schnelle oder gemischte Modifikation Anwendung findet.

1. Die langsame Silbermethode. Die passendste Lösung für die Härtung ist die nach der Müller'schen Vorschrift bereitete Flüssigkeit (Kalium bichromicum 2,0 Grm., Natrium sulfuricum 1,0 Grm., Aqua destillata 100,0 Grm.). Es ist aber zweckmässig, von acht zu acht Tagen die Dosis des Bichromates zu vergrössern, so dass man bis zu 3,5 Grm., 4 Grm. und

5.0 Grm. auf 100,0 Aq. dest. kommt. Die Resultate sind umso besser, je frischer das zu untersuchende Material ist.

Die Dauer der Imbibirung hängt nicht nur von der Koncentration der härtenden Flüssigkeit, sondern auch von der Temperatur der Umgebung ab. In der Kälte muss sie länger dauern, dagegen können in der Wärme die Unterschiede sehr gross sein. Die Reaktion, die man im Sommer binnen 30—40 Tagen erhalten kann, gelingt im Winter oft erst nach drei, vier und mehr Monaten. Daher lassen sich keine genauen Regeln aufstellen, und die guten Resultate hängen zum Theil vom Zufall ab. Der schwierigste und zugleich wichtigste Theil der Methode ist die Bestimmung der Zeitdauer, nach der der zweite Theil des Verfahrens, die Uebertragung der Stücke aus dem Bichromat in das Silbernitrat zu erfolgen hat. Den Mangel an bestimmten Regeln muss man durch zahlreiche Versuche ersetzen, die man von Zeit zu Zeit anstellt. In der kalten Jahreszeit ist es zweckmässig erst drei Monate nach dem Einlegen in das Bichromat Versuche anzustellen, nachdem man es von zehn zu zehn Tagen erneuert hat. Bei dem allmählichen Uebergange von der kalten zur warmen Jahreszeit soll man die Versuche verhältnissmässig früher anstellen und die Zeit der Wiederholungen abkürzen. In der wärmsten Jahreszeit kann man die Versuche der Reaktion mit dem Silbersalze nach 30—40 Tagen beginnen und sie in Zwischenräumen von 4—5 Tagen wiederholen. »Was die Regel der Aufeinanderfolge der verschiedenen Einwirkungen auf die Nervenzellen und -Fasern und auf die Bindegewebselemente betrifft, so muss ich erklären, dass es mir noch nicht gelungen ist, sie mit Sicherheit zu bestimmen, denn unter anscheinend gleichen Bedingungen habe ich nicht selten ganz verschiedene Resultate erhalten. Ich kann jedoch behaupten, dass die Aufeinanderfolge der Reaktionen auf die verschiedenen Gewebe in der Regel (beim Riechlappen) folgende ist: 1. Bündel von Nervenfasern, die die oberflächlichste Schicht der Bulbi bilden und in die Glomeruli eindringen. 2. Grosse Nervenzellen, die in regelmässiger Reihe an der inneren Grenze der grauen Schicht liegen. 3. Bündel von Nervenfasern der weissen Substanz. Fast gleichzeitig oder wenig später die kleinen pyramidalen Zellen, die in den von den Fasern der Nervenbündel gelassenen leeren Räumen in derselben Schicht liegen. 4. Bindegewebselemente und Blutgefässe. Diese werden fast immer, auch in den früheren Perioden, zugleich mit den Nervenzellen und -Fasern gefärbt, bald in der einen, bald in der anderen Schicht am besten; aber ihre vollständigste, ausgedehnteste und zierlichste Färbung tritt beständig erst in einer vorgeschrittenen Härtungsperiode ein. 5. Ohne bestimmte Regel, d. h. bald gleichzeitig mit den Bindegewebselementen, bald mit den Nervenfasern, färben sich die grossen einzeln liegenden, in der mittleren inneren Schicht zerstreuten Nervenzellen.«

Die verwendete Silberlösung ist einprocentig, jedoch kommt man auch mit 0,50- und 0,75%iger aus, die aber nach 12, 15, 20 Stunden erneuert werden muss, wenn sie eine gelbliche Farbe bekommt. In dem Silber können die Präparate unbeschadet lange liegen bleiben. Gewöhnlich ist nach 24, höchstens 48 Stunden die Reaktion beendet. Das längere Verweilen in der Silberlösung verbessert die Resultate nicht.

Es ist vortheilhaft, nicht zu grosse Stücke für diese Methode zu wählen (ca. 1—2 Cm. Seitenlänge).

Um die Abhängigkeit von der äusseren Temperatur zu umgehen, kann man die Organe auch in einem Thermostaten bei 20—25° härten, wobei dann natürlich die Zeit der Härtung abgekürzt wird; die Imprägnationsbilder erscheinen aber bei den auf diese Weise erhaltenen Präparaten etwas vergröbert.

Um eine möglich gute Imbibirung der Organe zu erreichen, kann man auch eine 2,5%ige Lösung von Kaliumbichromat in die Gefässe injiciren. Dabei bilden sich allerdings in den feineren Gefässen oft Niederschläge, die ein weiteres Vordringen der injicirten Flüssigkeit verhindern.*

Eine Beschleunigung der Härtung erzielt man nach den Angaben von Golgi auch dann, wenn man statt der Müller'schen Flüssigkeit die Erlicki-sche Mischung benutzt (Kalium bichromicum 2,5 Grm., Cuprum sulfuricum 0.5, Aq. dest. 100,0) Die Resultate sind aber auch hierbei keine besonders guten, ähnlich wie bei der Härtung im Brütofen. Dagegen hat Golgi gute Erfolge erhalten, wenn er Mischungen von Erlicki'scher Flüssigkeit mit Müller'scher Flüssigkeit (letztere in steigenden Verhältnissen) mischte (Erlicki 20—50%, Müller 80—50%).

Die Veränderung der Koncentration der Silberlösung ist mitunter doch von besonderem Vortheil; denn Golgi fand, dass für Stücke, die zu kurze Zeit gehärtet waren, schwächere (0,5) Lösungen, dagegen für Stücke die zu lange in der Härtungslösung gelegen hatten, stärkere Lösungen (1%) von Vortheil sind.

2. Die schnelle Silbermethode. Einen wesentlichen Fortschritt hat Golgi mit dieser Modifikation erreicht, indem die Härtung hierbei ganz bedeutend abgekürzt wird. Sie ist es denn auch, die bei weitem am häufigsten von den Autoren angewendet worden ist. Vorbedingung ist auch hier, dass man möglichst frische Organe und recht kleine (0,5—1 Cm. Seitenlänge) benutzt.

Die Modifikation besteht darin, dass der Härtungsflüssigkeit Osmiumsäure zugesetzt wird. Wie die Osmiumsäure wirkt. ist theoretisch vollkommen unklar.

Die Härtungsflüssigkeit hat folgende Zusammensetzung: Kalium bichromicum 2—2,5% 8 Theile, Acidum Osmicum 1% 2 Theile.

Neuerdings empfiehlt Golgi: Kalium bichromicum 3% 2 Theile. Acidum Osmicum 1% 1 Theil.

Wenn die Organe zwei bis drei Tage (die Zeit hängt sehr von der Beschaffenheit des Organes ab — davon unten mehr) in dieser Mischung verweilt haben, können sie schon mit gutem Erfolge in die Silberlösung gebracht werden. An den unmittelbar darauffolgenden Tagen (3—4—5) zeigen die Präparate gewöhnlich noch reichlichere Färbungen, dann aber nimmt die Reaktionsfähigkeit ab, um gegen den 10.—12. Tag ganz aufzuhören. Die Stücke müssen in der Siberlösung, von der man sich immer vergewissern muss, ob sie noch Argentum nitricum enthält, aufbewahrt werden, in Alkohol verderben sie sehr schnell.

3. Die kombinirte Silbermethode. Diese hat manche Bequemlichkeit. Die Organe kommen in die oben erwähnte Müller'sche Flüssigkeit und können dann sogleich oder nach einem Zeitraum von 3—4 und 25 bis 30 Tagen weiter behandelt werden.

Wenn man während dieser ganzen Zeit in Zwischenräumen von 2—3—4 Tagen einige Stückchen in die Osmiumbichromatmischung überträgt, so bekommt man ebensoviele sekundäre Reihen von Stückchen. welche einzeln (1—2 auf einmal) in die Silbernitratlösung eingebracht werden und vom 3. oder 4. Tage ihres Aufenthaltes in der Mischung an bis zum 8. oder 10. mit Sicherheit Präparate mit allen aufeinander folgenden Abstufungen und Kombinationen und von der überraschendsten Feinheit, wie sie bei der ursprünglichen Methode beschrieben worden sind, liefern.

---

* Hill setzt dem Kalium bichromicum, das injicirt wird, um die Kontraktion der Gefässe zu verhindern, 1% Milchsäure hinzu. Tooth macht zu demselben Zwecke dem Thiere zugleich eine Morphiuminjektion.

Die Vortheile dieser Methode sind sehr einleuchtend: 1. die Sicherheit, die Reaktion in vielen Abstufungen hervorzubringen, wenn man über eine gewisse Anzahl von Stückchen verfügt; 2. die lange Zeitdauer, während der man die Reaktion ausführen kann, die man aber auch in wenigen Tagen erreichen kann, was eine genaue Untersuchung sehr erleichtert.

4. Die Sublimatmethode. Sie hat ihre besonderen Vortheile auch neben der Silbermethode. Die Präparate, an denen die Reaktion gelungen ist, erscheinen schwarz, wenn man sie unter dem Mikroskope bei durchfallendem Lichte betrachtet. Bei auffallendem Lichte dagegen bemerkt man, dass die Elemente vollkommen weiss erscheinen, ja unter stärkerer Vergrösserung zeigen sie deutlich Metallglanz. Die besonderen Vortheile bestehen darin, dass man grössere Stücke verwenden kann, dass das Gelingen absolut sicher ist, ohne dass man sich an strenge Regeln über den Aufenthalt in der Härtungsflüssigkeit zu binden braucht, und endlich darin, dass die Präparate, die man erhält, keine besondere Fürsorge bei der Aufbewahrung erfordern, sondern auf die gewöhnliche Weise behandelt werden können.

Die Technik besteht ebenfalls aus zwei Hauptvorgängen: *a)* der Härtung in Kalium bichromic. und *b)* der Uebertragung in eine Sublimatlösung.

Die Härtung erfolgt in der gewöhnlichen, unter 1. geschilderten Weise. Es macht für den Erfolg nichts aus, ob man nacheinander koncentrirtere Lösungen anwendet, z. B. von 1, 2, 3%, oder die Stücke sogleich in MÜLLER'sche Flüssigkeit einlegt. Im allgemeinen ist es zweckmässig, dass die Stücke etwas klein sind, aber dies ist nicht durchaus nothwendig, man erhält auch gute Resultate mit sehr grossen Stücken, ja sogar mit ganzen Gehirnen. In diesem letzteren Falle würde jedoch die konservirende Flüssigkeit lange Zeit gebrauchen, um einzudringen, und die centralen Theile könnten faulen, ehe sie ihre Wirkung erfahren hätten. Darum ist es für diese Fälle nothwendig, eine sorgfältige Injektion mit dem Bichromat vorauszuschicken, so dass das Reagens durch das ganze Organ gut vertheilt wird.

Um feine, reichliche Reaktion zu erzielen, ist es sehr passend, in der Zeit zwischen dem 20. und 30. Tage die Härtung zu unterbrechen, doch auch eine Zeit von 2, 3 und 4 Monaten und mehr ist noch durchaus vortheilhaft zum Gelingen der Reaktion.

Die Sublimatlösung enthalte 0,25—1,0% Hydrargyrum bichlorat. corr. in destillirtem Wasser. In diese Lösung werden die Stücke unmittelbar aus der Bichromatlösung übertragen.

Die Reaktion erfolgt viel langsamer als im Silbernitrat. Bei kleinen Stücken sind nicht weniger als 8—10 Tage nöthig, bei grösseren dagegen bis über zwei Monate. Je länger die Einwirkung des Bichromates gewesen ist, um so länger muss auch der Aufenthalt im Sublimat sein, aber desto vollständiger und zierlicher gelingt auch die Reaktion. Zuerst muss man täglich die Sublimatlösung erneuern, später nur dann, wenn sie eine gelbe Farbe angenommen hat. Die ersten Spuren der Reaktion beginnen 3 bis 4 Tage nach der Einlegung, aber nur in hier und da auftretenden kleinen Flecken. Wenn die Reaktion ihr Maximum erreicht hat, dann sehen die Stücke blass aus und zeigen das Aussehen frischen Hirngewebes, das man leicht in Wasser abgewaschen hat.

In der Sublimatlösung kann man die Stücke mit Vortheil beliebig lange liegen lassen, nicht nur wegen der Möglichkeit einer weiteren Ausbreitung der Reaktion, sondern auch weil sie dadurch eine zur Ausführung feiner Schnitte sehr geeignete Härte bekommen. Bei kürzerer Einwirkung der Reagentien färben sich meist nur die Ganglienzellen, erst bei langer Einwirkung auch die Nervenfasern mit ihren Kollateralen.

Die Schnitte müssen, ehe sie in Glycerin oder Lack eingeschlossen werden, sehr sorgfältig ausgewaschen werden. Ohne diese Vorsicht bildet sich einige Tage nach der Einschliessung auf den Schnitten ein Präcipitat in der Form eines schwarzen Staubes oder nadelförmiger Krystalle, die das Präparat in hohem Grade entstellen. Sonst bietet die Behandlung der Schnitte gar nichts Besonderes.

Will man die weisse Quecksilberverbindung schwärzen, so kann man dazu eine Lösung von Natriumsulfit oder Hyposulfit benützen. Der Process muss aber sehr sorgfältig überwacht werden, weil sonst die Schnitte leicht verderben. GOLGI empfiehlt daher folgende Methode:

Die Flüssigkeit, die der photographischen Praxis angehört, hat folgende Zusammensetzung.

a) Aqua dest. 1000,0, unterschwefligsaures Natron 175,0, Alaun 20,0, Schwefelcyanammonium 10,0, Chlornatrium 40,0. Diese Mischung bleibt 8 Tage ruhig stehen und wird dann filtrirt.

b) Wasser 100,0, Aurumchlorat 1,0.

Man mische: Lösung *a)* 60 Ccm., *b)* 7 Ccm., altes kombinirtes Bad 40,0 Ccm.

Die Mikrotomschnitte werden:

1. in destillirtem Wasser gewaschen,

2. Eintauchen für 1—2 Minuten in die oben angegebene Mischung. Die Schnitte werden schwarz.

3. Neues sorgfältiges Waschen in Wassser.

4. (Eventuell) Nachfärben mit Karmin. Am besten saurer Karmin, und zwar in einer Verdünnung mit Essigsäure und Alkohol (zu gleichen Theilen). Die Flüssigkeit muss eine gesättigt rothe Farbe haben.

5. Waschen in Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Balsam.

Es ist nun noch nöthig, die weitere Behandlung der mit den Silbermethoden gewonnenen Präparate nach den Angaben von GOLGI zu schildern. Die mit dem Rasirmesser oder dem Mikrotom hergestellten Schnitte werden zunächst mehrfach und sorgfältig mit Alkohol gewaschen, um jede Spur von Argentum nitricum, das sie ja natürlich enthalten, möglichst vollständig zu entfernen. Geschieht das nicht, dann bräunen sich die Schnitte nachträglich so stark, dass sie unter Umständen ganz unbrauchbar werden. Aus starkem (96%igem oder absolutem) Alkohol bringt GOLGI die Schnitte alsdann in Kreosot und darauf in Ol. Terebinthin. Von da kommen sie in Dammarlack.

Da nun die Schnitte nicht mit einem Deckglase bedeckt werden können, weil sie sonst, wie schon im allgemeinen Theil (cf. pag. 479) angegeben wurde, leicht verderben, muss man sie genügend mit Dammar auf dem Objektträger bedecken und vor Staub geschützt trocknen lassen. Ist dies ordnungsmässig geschehen, dann sind die Präparate unbegrenzt lange Zeit haltbar. Um die Schnitte nun auch mit den stärkeren Systemen betrachten zu können, hat GOLGI empfohlen, sich Objektträger von Holz zu bedienen, die einen quadratischen Ausschnitt haben, der von unten mit einem Deckgläschen bedeckt werden kann. Auf dieses Deckglas bringt man den oder die Schnitte, die mit Dammarlack in der oben geschilderten Weise bedeckt werden. Wenn der Lack trocken geworden ist, dreht man den Objektträger um und beobachtet dann von der Unterseite. Solche Präparate kann man an Stellen, die günstig liegen, auch mit Immersion betrachten

Die von GOLGI gegebenen allgemeinen Originalvorschriften genügen für alle Fälle, um mit der Methode brauchbare, vollendet klare Präparate zu erhalten. Die GOLGI'sche Reaktion ist anwendbar vor allem auf das Centralnervensystem. Hier werden beim ausgebildeten wie beim fötalen Organ Ganglienzellen mit allen ihren Fortsätzen (in toto oder mit in ihnen enthaltenen Strukturen), Gliazellen, Nervenfasern, und zwar sowohl die

Achsencylinder von markhaltigen und marklosen, wie die Scheiden gefärbt. Die Nerven mit ihren Endigungen können in allen Organen gefärbt werden, dies betrifft also gleichmässig die motorischen, wie die sensiblen und sensorischen Endapparate und Nervenbahnen. Natürlich sind die höheren Sinnesorgane in dieser Aufzählung einbegriffen. Ausser den eigentlich nervösen Theilen werden in allen Organen, so weit vorhanden, Gefässe und Bindegewebsfasern gefärbt. Letztere sind meist daran leicht zu erkennen, dass sie eine deutliche, durchscheinend bräunliche Farbe angenommen haben, während die Nervenfasern schwarz oder tief dunkelbraun aussehen. Epithelzellen können entweder in toto gefärbt erscheinen, oder es werden an ihnen die Grenzen durch Färbung der sogenannten Kittsubstanz deutlich, oder, wenn vorhanden, können in ihnen Strukturen, Sekretkapillaren etc. gefärbt werden. Ebenso können unter Umständen auch einzelne Flimmerhaare imprägnirt werden. Häufig bleibt der Kern ungefärbt, so dass er als helle, weisse oder braune Stelle hervortritt. Auch die Spermatozoen sind so färbbar. In den Bindesubstanzen können die zelligen Elemente tingirt werden (z. B. Cornea, Knochen- und Knorpelzellen, Dentinkanälchen etc.) oder auch die Grundsubstanz und die in ihr liegenden Fibrillen. Muskelfasern werden mitunter in toto imprägnirt, mitunter kann aber auch die anisotrope Substanz der quergestreiften Fasern allein gefärbt erscheinen. Nicht nur Wirbelthiere, die ich bisher im Auge hatte, sondern auch Wirbellose können mit bestem Erfolge der Reaktion unterworfen werden. Von letzteren werden im allgemeinen ähnliche Bestandtheile gefärbt, wie sie oben aufgezählt worden sind. Bei Insekten färben sich sehr vollständig die Tracheen.

Man sieht die enorme Vielseitigkeit der Methode, die natürlich der Beurtheilung der Präparate, wie schon oben erwähnt, gewisse Schwierigkeiten bieten kann, die aber auch wieder ein sehr grosser Vorzug ist. Das eine ist aber besonders hervorzuheben: man hat es nicht absolut sicher in der Hand, vorher zu bestimmen, was für Elemente man in einem Präparat gefärbt erhält. Dieser Umstand ist der Methode als »Launenhaftigkeit« vorgeworfen worden, d. h. mit anderen Worten natürlich nur, dass man nicht weiss, woran es liegt, dass einmal dies, das anderemal jenes bei anscheinend genau gleicher Behandlungsweise gefärbt wird.

Aus diesem Grunde sind nun auch eine Unzahl von Modifikationen von fast allen Forschern, die mit der Methode gearbeitet haben, angegeben worden. Sicher bessere Resultate haben nur wenige erreicht.

Ehe ich auf diesen Abschnitt der Darstellung eingehe, möchte ich noch einige Winke allgemeiner Natur geben, die für den der die Methode zum erstenmale anwendet, nützlich sein mögen.

Fast aussichtslos ist es, mit Sicherheit erwarten zu wollen, an einem kleinen, verfügbaren Stückchen eines Organes ein bestimmtes histologisches Element etwa gar isolirt erhalten zu wollen.* Das ist allerdings fast immer dem Zufall unterworfen, wenn man in solchem Falle Erfolg hat. Man möge zunächst beachten, dass für die Silberfärbung bestimmte Thiere verschieden gut zu brauchen sind. Vor allem vortheilhaft sind hierfür Embryonen oder ganz junge Thiere. Hier färben sich z. B. auch die Nervenfasern oder Achsencylinder besonders leicht, nicht deswegen, weil sie nicht von Markscheiden umgeben sind — denn auch in weisser Hirnsubstanz färben sich Achsencylinder —, sondern weil die verschiedenen Flüssigkeiten so sehr leicht in die Tiefe dringen können. Aus diesem Grunde ist z. B. das Gehirn des

* Damit soll nicht davon abgerathen werden, eventuell auch werthvolles, in geringer Menge vorhandenes Material der Imprägnation zu unterwerfen. Erhält man an ihm keine brauchbaren Bilder, so sind, namentlich in den Osmiumbichromatgemischen, die Organe so gut fixirt, dass man sie nach Entfernung des Silbersalzes z. B. mit unterschwefligsaurem Natron zu anderen Zwecken noch wohl verwenden kann.

Igels für die Imprägnationen besonders geeignet (Hill). Diese Beobachtung wird man bei den verschiedenen Organen bestätigt finden. Des weiteren ist von Wichtigkeit, worauf auch schon mehrfach aufmerksam gemacht wurde, dass das Material möglichst frisch sein muss. Dann nehme man nicht zu wenige, kleine Stücke. Für das Centralnervensystem eignen sich besonders die langsame und die gemischte Silbermethode und die Sublimatmethode, die für die peripherischen Nerven etc. nicht so geeignet sind. Für alles brauchbar ist die rasche Methode, für die auch die weiteren Vorschläge bestimmt sind. Man verlasse sich nicht zu sehr auf specielle Modifikationen, die von den Bearbeitern bestimmter Gebiete angegeben sind, da auch sie durchaus nicht etwa sicher einen bestimmten Erfolg garantiren. Zunächst nehme man reichlich von der Fixirungsflüssigkeit und lege in ein Glas nicht zu viel Stücke. Es ist nicht nöthig, die Fixirung im Dunkeln vorzunehmen; dagegen wird man wohl vermeiden, die Mischung wie alle Kalium bichromicum enthaltenden Lösungen, dem grellen Sonnenlichte auszusetzen. Im hiesigen (Göttinger) Anatomischen Institute sind braune, mit Kork verschliessbare Präparatengläser im Gebrauch, die für alle derartigen Zwecke sich vorzüglich bewährt haben. Man nehme nun vom zweiten Tage der Fixirung an in Zwischenräumen von 12 oder 24 Stunden einzelne Stückchen des Organes und lege sie in die 0,75⁰/₀ige Silberlösung, die man vorräthig halten kann, da ältere Lösungen vortheilhafter sind als frisch zubereitete. Um zu reichliche Niederschläge in der Silberlösung zu vermeiden, die sofort entstehen, wenn man die fixirten Stückchen direkt aus der Bichromatmischung einlegt, kann man die Präparate ganz kurz mit destillirtem Wasser oder mit gebrauchter Silberlösung abspülen. Jedenfalls sorge man dafür, dass die Silberlösung, in der das Organ gefärbt werden soll, klar und in reichlicher Menge vorhanden ist. In der Silberlösung verweilen die Stückchen mindestens 24 Stunden. Wenn man so in den genannten Intervallen eine Reihe von Tagen (länger wie 10 Tage ist fast nie nöthig) hindurch Material in die Silberlösung bringt, dann kann man mit Sicherheit darauf rechnen, gute Erfolge zu erzielen und mannigfache Gewebselemente imprägnirt zu erhalten. Fügt man zu dieser Art der Behandlung noch die unten näher zu erläuternde doppelte oder dreifache Imprägnation nach Cajal, dann wird man ein vollkommenes Fehlschlagen der Reaktion nie erleben.

Beim Anfertigen der Schnitte empfiehlt es sich vor allem, das Rasirmesser zu gebrauchen. Die Methode bringt es mit sich, dass dicke Schnitte im allgemeinen viel mehr zeigen als dünne, an denen man die einzelnen Elemente nur auf kurze Strecken hin verfolgen kann. Jedenfalls mache man die ersten Schnitte, die darüber orientiren sollen, ob das Präparat überhaupt die weitere Behandlung lohnt, immer mit dem Rasirmesser. Handelt es sich darum, zu besonderen Zwecken dünne grosse Schnitte oder Serien durch Organe anzufertigen, dann wird man freilich nicht ohne Mikrotom auskommen. Sehr brauchbar ist zu dem Zwecke das Gefriermikrotom, nur beachte man, dass man die Schnitte nicht zu lange im Wasser oder im Alkohol lasse, da beides den zarten Silbergebilden schädlich ist; man beeile sich, sie in Xylol überzuführen, wo man sie ohne Sorge längere Zeit aufbewahren kann. Häufig wird man auch durch Einklemmen von den Organen zwischen Sonnenblumenmark oder Klemmleber mit dem Mikrotom Schnitte anfertigen können. Doch ist für manche Zwecke das Einbetten nicht zu umgehen. Hierbei handelt es sich kaum jemals darum, das Organ mit Einbettungsmasse vollkommen zu durchtränken, sondern nur es damit zu umgeben, so dass es festgehalten wird. Ausserdem haben die aus den Osmiumgemischen kommenden Stücke meist eine zum Schneiden sehr günstige Konsistenz.

Will man in Celloidin einbetten, so entwässere man die Präparate möglichst schnell; dazu sind höchstens bei den doch nicht dicken Stücken

wenige ($^1/_4$—2) Stunden erforderlich. Ebensolange lasse man die Präparate in dünnem Celloidin. Dann werden sie mit dicker Celloidinlösung überzogen und damit zugleich auf ein Stückchen Kork oder besser Holz aufgeklebt. Lässt man die Präparate an der Luft kurze Zeit stehen und dann in 70%igem Alkohol verweilen, dann kann man sie mit dem Mikrotom gut schneiden.

Schneidet man grössere Stücke, die, weil sie ja nicht vollständig durchdrungen sind, leicht bröckeln, so kann man die Schnittfläche vor dem Anfertigen der Schnitte mit einer dünnen Schicht Celloidin überpinseln; sobald sie erstarrt ist, was durch Auftröpfeln von 80%igem Alkohol beschleunigt werden kann, kann man den Schnitt ausführen (Lenhossek).

Je nach der Dicke der Stückchen dauert die ganze Manipulation $^1/_2$ bis 5 Stunden. Membranöse Organe (z. B. Retina) kann man auch sehr zweckmässig so einbetten, dass man Stücke von ca. 1—$1^1/_2$ Qcm. Seitenlänge entwässert, in Kollodium legt und sich dann aus dem käuflichen feuchten Celloidin kleine dicke Plättchen von entsprechender Grösse schneidet. Zwischen zwei solche Plättchen, deren dem Präparat zugewendete Seiten mit dünner Celloidinlösung haftend gemacht worden sind, legt man dann die Membran; ein kurze Zeit dauernder leichter Druck befestigt die Theile untereinander und nach kurzem Verweilen in 70%igem Alkohol kann das Organ geschnitten werden. Auf diese Weise kann man z. B. sehr leicht Flächenschnitte grosser Retinabezirke erhalten, weil zugleich die Membran in einer Ebene vorzüglich ausgebreitet wird.

Nach ähnlichen Principien verfährt man bei der Paraffineinbettung. Da hier häufig das Organstück nur mit Paraffin umgossen zu werden braucht, kann das Verweilen im absoluten Alkohol und im Xylol sehr abgekürzt werden. Im Einzelnen brauchen wohl kaum weitere Angaben gemacht zu werden, da diese Technik eben ausserordentlich einfach ist.

Die Befürchtungen von Sehrwald, dass beim Einbetten und Schneiden die feinen Niederschläge aufgelöst würden, sind jedenfalls übertrieben; nach meinen Erfahrungen schaden diese kurz dauernden Manipulationen nicht im geringsten. Dass in verschiedenen der dabei in Anwendung kommenden Flüssigkeiten Silberbichromat in Spuren gelöst wird, ist nicht unwahrscheinlich. Gewiss werden diese Medien aber immer gesättigt werden durch die dem Präparate anhaftenden groben Niederschläge.

Zur Beurtheilung der Golgi'schen Präparate sei noch auf einige Beobachtungen aufmerksam gemacht, die gewiss nicht ohne Bedeutung sind. Sehrwald hat darauf hingewiesen, dass durch die Imprägnirung die Ganglienzellen z. B. in ihren physikalischen Eigenschaften ganz erheblich verändert werden, sie werden spröde und leicht zerbrechlich, wie man bei manchen Präparaten z. B. beobachten kann, die in Paraffin eingebettet waren, namentlich in solches von hohem Schmelzpunkt, das durch seine hohe Temperatur schrumpfend auf die Organe einwirkt. Dann sehen z. B. die Spitzenfortsätze von Grosshirnganglienzellen wie zickzackförmig gebrochene Stäbe aus. Je stärker die Schrumpfung ist, umso stärker ist auch die Knickung. Unter Berücksichtigung dieser Thatsachen kann man die Grösse der Schrumpfung, die die Zellen erleiden, berechnen, die zwischen 21,7% und 26% schwankt. Man darf natürlich nicht dem Irrthum verfallen, die geknickte Form für etwas Normales zu halten.

Auf einen anderen wichtigen Punkt haben Weil und Frank aufmerksam gemacht. Gelegentlich der Untersuchung der Frage, wie weit es möglich ist, normale oder von den auf verschiedene Weise vergifteten Thieren stammende Ganglienzellen mit der Golgi'schen Methode zu unterscheiden, wofür die Ergebnisse negativ waren, machten sie folgende bedeutsame Beobachtung. Ihre Resultate waren nämlich bei gleichem Material verschieden, je nachdem, ob sie die schnelle Golgi'sche Methode, die gemischte, die langsame oder

die Cox'sche Sublimatimprägnation verwendeten. Varikositäten und feine Seitendornen an den Zellfortsätzen traten fast immer bei den schnellen Methoden auf, während sie bei den langsamen ausblieben, ganz unabhängig davon, ob die Thiere vergiftet waren oder nicht. Auch zeigte sich, dass bei derselben Methode dasselbe Material auch nicht immer dieselben Bilder gab. Dies mahnt zur grössten Vorsicht bei der Verwendung der gewonnenen Bilder zur Aufstellung von Hypothesen und zeigt, dass man derartige feine Strukturverhältnisse, die eine Methode aufdeckt, nicht etwa unbedingt für präformirte halten darf.

b) Modifikationen.

Unter den zahlreichen Modifikationen der Golgi'schen Methoden müssen hier zunächst die berücksichtigt werden, die allgemeineren Zwecken dienen, in einem weiteren Abschnitt können dann einige wichtige, für specielle Aufgaben geeignete Modifikationen zusammengestellt werden.

Die Sublimatmethode, die vor allem für das Centralnervensystem Verwendung findet, ist durch Cox in bedeutsamer Weise modificirt worden und ist auch für die Retina mit Vortheil verwendet worden (Krause). Diese Methode unterscheidet sich dadurch wesentlich von der ursprünglichen Angabe, dass beide Flüssigkeiten (Kalium bichromicum und Sublimat) zu gleicher Zeit einwirken, nicht nacheinander.

Cox bringt folgende Mischung zur Anwendung:

Kalium bichromicum 5% 20 Vol., Hydrargyrum bichlor. corr. 5% 20 Vol., Kalium chromatum 5% 16 Vol., Aqua destillata 30—40 Vol.

Bei der Zubereitung achte man darauf, dass die Kaliumchromatlösung hinzugefügt wird, nachdem sie mit dem angegebenen Quantum Wasser verdünnt ist. Dies darf man nicht unberücksichtigt lassen, um den Niederschlägen des Mercurichromates vorzubeugen. Man nehme nicht zu grosse Stücke (höchstens ein halbes Rattengehirn z. B.). Nach 3—4 Tagen bemerkt man in den Zellen eine gelbe körnige Verbindung, die jedenfalls aus einer Quecksilberoxydulverbindung besteht. Zur vollständigen Imprägnirung lässt man die Organe zwei und mehr Monate in der Lösung. Im Sommer genügt zur vollkommenen Imprägnirung, wie auch von Lenhossek angegeben hat, ein Monat, ja bei kleinen Stücken noch kürzere Zeit. Die Schnitte werden am besten mit dem Gefriermikrotom gemacht. Wenn die Einbettung in Paraffin oder Celloidin nicht sehr schnell vor sich geht, leiden die Imprägnationen erheblich. Die Schnitte werden dann für eine bis zwei Stunden in eine 5%ige Lösung von Natriumkarbonat gelegt, wobei der Niederschlag schwarz wird; dann werden sie in Wasser ausgewaschen und durch Alkohol absolutus und irgend ein Oel, das mit Filtrirpapier entfernt wird, in einem Lack von folgender Zusammensetzung eingeschlossen:

Sandarak 75 Vol., Kampher 15 Vol., Ol. Terebinth. 30 Vol., Ol. Lavendul. 22,5 Vol., Alkohol absolutus 75 Vol., Ol. Ricini gtt. 5—10.

Will man die Schnitte mit einem Deckglas bedecken, dann warte man, bis die Harzschicht gut trocken geworden ist, bedecke diese mit Ricinusöl, und drücke dann das Deckglas so stark als möglich an, damit das überflüssige Oel entfernt wird.

Die Methode zeichnet sich durch ausserordentliche Sicherheit aus.

Für die Silbermethoden ist statt des Kaliumbichromates auch das Ammonium bichromicum (Golgi) und das Natrium bichromicum (Kallius) empfohlen worden. Letzteres scheint besonders schnell durchzudringen und giebt für viele Fälle gute Resultate. Mit anderen Chromverbindungen (Cuprum chromicum und Lithium bichromicum) erhält man auch Imprägnationen, die aber entschieden weniger vollständig sind als bei Verwendung des Kalium bichromicum.

Sala hat folgende Salze einer eingehenden Prüfung unterzogen: die des Natrium, Calcium, Magnesium, Rubidium, Lithium, Zincum, Cuprum. Er fand, dass die Salze von K, Na, Li, Rb und von Ca, Mg bessere Resultate geben als vom Cu und Zn. Die Rb-Verbindung ist unter Umständen der K-Vermischung vorzuziehen. Die anderen geben aber vor dem K keine Vorzüge. Das Ca-Salz hat besondere Neigung, die tangentialen Fasern der Hirnrinde zu färben, weswegen man wohl bisweilen zu diesem Salze greifen sollte.

Um die theure Osmiumsäure zu ersetzen, hat man mit Erfolg das Formaldehyd (Hoyer, Durig, Kopsch, Strong, Gerota etc.) in Anwendung gebracht. Bei der Imprägnirung des Gehirns hat sich dieser Ersatz sehr vortheilhaft erwiesen, für die übrigen Anwendungsarten hat das Formols die Osmiumsäure trotz brauchbarer Resultate nicht zu verdrängen vermocht.

Kopsch hat für allgemeine Zwecke folgende Methode angewendet.*

Das Material braucht nicht ganz frisch zu sein. 40 Ccm. einer 3,5%igen Kalium bichromicum-Lösung werden mit 10 Ccm. des käuflichen Formols kurz vor dem Gebrauch gemischt. Legt man grössere Stücke in die Lösung, dann muss man sie bald wechseln. Nach 24 Stunden ersetzt man die Lösung durch eine 3.5%ige Kaliumbichromatlösung. Hierin verbleiben die Stücke bis zum Uebertragen in die Silberlösung. Zwischen 2—6 Tagen schwankt die Zeitdauer der Imbibirung. Die störenden Niederschläge werden hierbei sehr vollständig vermieden; darin besteht ein Hauptvortheil der Methode. (Weitere specielle Angaben über die Formolmethode werden noch bei den einzelnen Organen gegeben.)

In dem Wechsel der Koncentration der Kaliumbichromatlösung besteht eine häufig von den Autoren geübte Modifikation der Golgi'schen Mischung. Am häufigsten wird die von Cajal angegebene 3,5%ige Lösung allgemein angewendet. Diese Mischung wird dann in der Litteratur häufig als die Cajal'sche Mischung bezeichnet, obgleich dies nicht die einzige Koncentrationsänderung ist, die der spanische Forscher angegeben hat.

Bemerkenswerth ist jedoch eine andere Modifikation, die Cajal verwendet hat, und die seitdem oft mit bestem Erfolge gebraucht ist. Es ist das die sogenannte doppelte und dreifache etc. Imprägnirung. Hat sich herausgestellt, dass die gewöhnliche Behandlung keine guten Resultate gegeben hat, dann kann man die Präparate in die schon gebrauchte Osmiumbichromatlösung zurückbringen, oder man kann auch eine neue Mischung ansetzen, die aber weniger Osmium enthält (20 Ccm. der Bichromatlösung und 2 oder 3 Ccm. der 1%igen Osmiumsäure). Zuviel Osmiumsäure macht die Gewebe leicht brüchig. Nach einigen Tagen (ausprobiren!) kommen die Organe dann wieder für mindestens 24 Stunden in die Silberlösung. Lenhossek lässt die Stücke bei der zweiten Behandlung immer zwei Tage in der Chromatmischung, in der Silberlösung dann mehrere Tage, da nach seiner Erfahrung die Reaktion langsamer eintritt. Eventuell kann man dieselbe Manipulation noch ein- oder zweimal wiederholen. So erreicht man oft ausserordentlich sichere Resultate, und diese Methode von Cajal ist eine der wichtigsten Modifikationen, die an der Golgi'schen Methode vorgenommen sind.

Es ist eine alte Erfahrung, dass Stücke, die zu lange Zeit in den Chromatgemischen gelegen haben, sich nicht mehr mit Silber imprägniren lassen; um dem abzuhelfen, hat Golgi vorgeschlagen, diese Präparate in einer halb gesättigten Lösung von Cuprum aceticum so lange zu waschen, bis sie keinen Niederschlag mehr geben, und dann für 5—6 Tage in die

* Kopsch färbte damit Augenganglien von Loligo, Grosshirnrinde von Ratte, Maus, Kaninchen, Kleinhirnrinde von Kaninchen, Rückenmark von der Maus, Lobus olfactorius vom Kaninchen, Leber von der Katze, Magen vom Kaninchen, Netzhaut vom Kalb, Schwein, Grosshirn vom Menschen.

Osmiumchromatgemische zurückzubringen. Die meist dann wieder gut gelungenen Schnitte halten sich unter dem Deckglas auch in eingedicktem Cedernholzöl unverändert. Damit ist eine sehr nützliche Methode gefunden. mit der man werthvolles Material sehr gut retten kann. Man kann aber, wie GOLGI neuestens angiebt, diese Verjüngung auch so vornehmen, dass man die Stücke auch 8 Stunden bis 10 Tage und länger in ein Gemisch gleicher Theile einer 2—3%igen Lösung von Kalium bichromicum und einer 4- bis 5%igen von Kupfersulfat bringt und von da direkt in das Silberbad legt. (Weiteres cfr. pag. 490.)

Statt der Lösung von Argentum nitricum ist neuerdings von GUDDEN vorgeschlagen worden, die jetzt zahlreich in den Handel gebrachten organischen Silberverbindungen anzuwenden, die z. Th. gute Resultate gegeben haben. Besonders wird Aktol (milchsaures Silber) empfohlen, das auch in Stücke von 2—3 Ccm. sehr gut eindringt. Es färben sich verhältnissmässig mehr Zellen mit zahlreichen Ausläufern. Durchaus nicht alle von der Industrie jetzt dargebotenen Verbindungen sind aber brauchbar. da manche mit Kalium bichromicum überhaupt keinen Niederschlag geben, oder nur bei neutraler Reaktion.

Ich habe auch vor längerer Zeit schon einige derartige Verbindungen versucht (Ichthargan, Argentum Thiohydrocarbucrosulfonicum solubile und Aktol) und kann mich dem günstigen Urtheil von GUDDEN anschliessen. Beim Ichthargan färbt sich die Grundsubstanz des Präparates gelblich bis gelbbräunlich, was aber der Klarheit des Bildes keinen Eintrag thut. Auch mir schienen sich mehr Zellen bei geringen störenden Niederschlägen gefärbt zu haben. Eine sichere Entscheidung kann aber wohl erst eine sehr ausgedehnte vergleichende Prüfung geben, da eben die Erfolge bei der GOLGI'schen Methode stets sehr wechselnde sind.

HILL hat statt des Höllensteins eine $^3/_4$%ige Lösung von Silbernitrit, der man $^1/_{1000}$ Ameisensäure zusetzt, angelegentlichst empfohlen. Ich besitze darüber keine eigenen Erfahrungen.

Zusätze zur Argentum nitricum-Lösung sind von einer Reihe von Forschern empfohlen worden (GEHUCHTEN, CAJAL, LENHOSSEK, KOLOSSOW etc.), diese sind aber fast alle wieder verlassen worden, da sich doch mit der Zeit herausstellte, dass sie unnütz sind. So hat man Acidum aceticum, Acidum formicicum, Acidum osmicum in geringen Quantitäten zugegeben. Es ist aber unnöthig, nähere Vorschriften zu geben, da die Erfolge unklar sind. Einen Schaden scheinen geringe Mengen dieser Substanzen nicht zu machen.

Sehr störend sind häufig bei den Präparaten die oft äusserst voluminösen peripherischen Niederschläge, die wichtige Stellen der Schnitte ganz bedecken können, da sie auch in die Substanz des Organes eindringen. Namentlich bei dünnen Membranen (Retina) kann dadurch viel verdorben werden. MARTINOTTI hatte angegeben, die Präparate mit einem Brei aus Filtrirpapier und Wasser einzuhüllen und so die Oberfläche zu schützen. Da der Schutz aber nur ein sehr geringer ist, hat SEHRWALD dafür Gelatine vorgeschlagen, die sich nun in der That auch bestens bewährt hat. Man fertigt eine 10%ige Gelatinelösung an, die natürlich auch warm zur Anwendung kommt. Man kann, wie SEHRWALD angiebt, darin die Stücke, die man aus der Bichromatlösung genommen hat, ehe sie in die Silberlösung kommen, in einem kleinen Kästchen einbetten, oder man kann die Präparate auch durch mehrmaliges Eintauchen und dazwischen Erkaltenlassen mit einem dünneren Gelatineüberzug versehen. Die Imprägnation wird gar nicht beeinträchtigt. Vor dem Einbetten und Schneiden muss die Gelatine vollkommen entfernt werden, da sie sonst nach Paraffineinbettung als knochenharte Masse das Schneiden äusserst erschwert. Eintauchen in warmes

Wasser, das, um die Färbung nicht zu schädigen, mit doppeltchromsaurem Silber gesättigt ist, löst die Gelatine in kurzem auf. Dieses Verfahren leistet meist ganz vorzügliche Dienste.

Cajal empfiehlt, die Oberflächen mit einer Schicht geronnenen Blutes zu bedecken; dies hat den Vortheil, dass es nicht vor dem Schneiden entfernt zu werden braucht. Athias schlägt vor, die Stücke vor dem Einlegen in die Silberlösung in Oblatenstücke einzuhüllen. Die beiden aufeinanderliegenden Blätter der Oblate werden getrennt, und die körnige, nicht die glatte Seite der mit Wasser oder einer Lösung von Kaliumbichromat angefeuchteten Oblate wird leicht an die Oberfläche des Stückes angedrückt, so dass sie ihr leicht adhärirt; darauf lässt man sie eine kurze Zeit an der Luft trocknen, um den Zusammenhang zu festigen.

Mir hat sich die Sehrwald'sche Gelatinemethode so bewährt, dass mir das Bedürfniss nach einer anderen nicht gekommen ist.

Die Niederschläge, die sich im Innern der Präparate sehr häufig an und in den Gefässen finden und die Ausführungsgänge der Drüsen so stark anfüllen, dass sie störend sind und verhindern, dass man zugleich gefärbte Ganglienzellen, Nerven etc. verfolgen kann, hat Dogiel damit zu umgehen versucht, dass er die Gefässe und Gänge mit rother oder blauer Leimmasse injicirte. Diese durchscheinende Masse hindert dann das Studium der Golgipräparate nicht im mindesten. Wenn man die Organe nicht zu lange in der Silberlösung lässt, wird die Farbe der Leimmassen auch nicht im geringsten verändert. Besonders bei der Leber, in der man die verschiedenen Gefässe mit blauer und rother Masse injiciren kann, erhält man, wie ich mich selbst überzeugt habe, ausserordentlich instruktive Bilder.

Sehr zahlreich sind die Bemühungen gewesen, die Golgi'schen Präparate deckglasbeständig zu machen. Es ist leicht verständlich, dass es für manche Fälle wünschenswerth war, die Präparate nachzufärben, bequem bei stärksten Vergrösserungen zu betrachten u. s. w.

Die angegebenen Methoden beruhen im wesentlichen auf zwei Principien. Einmal hat man durch Einschluss in schnell trocknendem oder schnell getrocknetem Harz die Diffusionsströme verhindern und der Lösung der Silberverbindung vorbeugen wollen, und zweitens hat man diese Silberverbindung in eine haltbarere Substanz überzuführen versucht.

Auf die von Golgi selber angegebenen Methoden gehe ich hier nicht mehr ein. Statt der von Golgi vorgeschlagenen hölzernen Objektträger kann man die umgekehrten Deckgläschen, an denen die Präparate im Balsam festgeklebt sind, auch mit Wachsfüsschen auf einem gewöhnlichen Objektträger befestigen. Die freie Seite des Deckgläschens ist dann dem Objektive des Mikroskopes zugewendet.

Edinger benutzt statt der in der That etwas unsoliden Wachsfüsschen kleine Glasperlen, die an den vier Ecken des Deckgläschens auf dem Objektträger befestigt werden.

Frl. Dr. Belcher benutzte Glimmerplättchen von 18 × 24 Mm., auf denen die Präparate mit Kanadabalsam angetrocknet werden. Dann wurden diese Platten auf Objektträger mit einem bandartigen Ausschliff von 1—1,5 Mm. Tiefe und 15—88 Mm. Breite mit Kanadabalsam aufgekittet.

Vor den oben erwähnten Methoden wird diese den Vortheil besitzen, dass das Deckglas nicht so weit über die Fläche des Objektträgers herausragt, sie hat aber den grossen Nachtheil, dass zu ihr nicht das gewöhnliche Glasmaterial der Laboratorien benutzbar ist.

Cajal verfuhr zur Haltbarmachung der Präparate so, dass er schnell trocknende Lacke benutzte. Die Schnitte wurden wiederholt in Alkohol gewaschen, in Terpentinöl übertragen, mit reinem Benzin behandelt und ohne Anwendung von Deckgläsern auf den Objektträger gelegt, der mit einem

aus Kopal, Mastix, Kolophonium und Benzin bestehenden Firnis überzogen ist. Da dieses Harzgemisch sehr flüssig ist, so muss es schichtenweise aufgetragen werden, um das Trocknen zu beschleunigen. Für die Dauerpräparate erwiesen sich die Balsame als die zweckmässigsten, die sehr schnell trocknen und einen hohen Brechungsindex haben. Die Schnitte müssen absolut trocken werden in dem Balsam und zu diesem Zweck längere Zeit unbedeckt aufbewahrt werden. Später können sie nach der gewöhnlichen Methode mit einem Deckgläschen bedeckt und erwärmt werden, und für diesen definitiven Verschluss eignet sich vorzüglich ganz trockener, geschmolzener Kanadabalsam.

Zu der ersteren Art der Haltbarmachung der Präparate ist ferner die Methode von Huber zu zählen, die folgendermassen ausgeführt wird. Die Schnitte sind aus dem starken Alkohol für 15 Minuten in Kreosot, dann für einige Minuten in Terpentinöl zu legen. Auf dem Objektträger werden sie dann sehr gut mit Fliesspapier abgetrocknet, mit Terpentinbalsam bedeckt und dann über der Flamme, unter Vermeidung von Blasenbildung allmählich erhitzt, bis der Kanadabalsam unter fortwährendem leichtem Dampfen so eingedickt ist, dass er beim Erkalten sofort hart wird. Auf den heissen Balsam wird dann ein erhitztes Deckglas leicht aufgedrückt und das Präparat ist haltbar eingeschlossen. Man muss sich natürlich sorgfältig vor zu heftigem Erhitzen hüten, aber dann leistet die Methode Gutes. Unbegrenzt haltbar scheinen die Präparate nicht zu sein.

Sehrwald hat dann vorgeschlagen, ausser dem Alkohol, der zum Entwässern benutzt wird, auch das Xylol und den zum Einschluss verwendeten Kanadabalsam mit doppeltchromsaurem Silber zu sättigen, dann könne man wohl die Schnitte mit einem Deckglase zudecken. Es ist bestritten worden, dass im Xylol das Silbersalz löslich ist, ich glaube doch, dass geringe Mengen gelöst werden können. So verschlossene Präparate halten sich nun in der That länger als die in gewöhnlichem Damar oder Balsam eingeschlossenen, aber doch verderben sie nach einiger Zeit, was nach den oben angeführten Gründen auch nicht zu verwundern ist.

Die Umwandlungen des Salzes in ein beständigeres hat Sehrwald auf die verschiedensten Weisen versucht*; er verwirft aber alle diese Methoden, weil sie die Feinheit der Bilder zerstören sollen.

Für bestimmte Zwecke kommt man nun aber bei Golgipräparaten sicherlich nicht ohne ein derartiges Beständigmachen des Silberbildes aus. Um nur ein Beispiel anzuführen, braucht man zur Entscheidung der Frage, wie die Sekretkapillaren der Speicheldrüsen, Belegzellen und Leberzellen sich zu den Zellen selbst verhalten, unbedingt die Färbung der Zellen, die eben unmöglich ist, wenn man das unbeständige Salz nicht in ein resistenteres verwandelt. Ausserdem glaube ich in Uebereinstimmung mit vielen Autoren sagen zu können, dass bei vorsichtiger Behandlungsweise auch die feinsten Niederschläge nicht zerstört werden.

Diese »Fixirung« der Golgipräparate beruht zum Theil darauf, dass die Silberverbindung in eine andere übergeführt wird, oder dass sie in metallisches Silber reducirt wird. Auch Kombinationen beider Principien können Verwendung finden.

Obregia** verwandelt das Silbersalz in ein Goldsalz. Die Schnitte kommen aus dem Alkohol in eine Mischung Goldchloridlösung 1% 8—10 Tropfen, Alkohol absolut. 10 Ccm., die eine halbe Stunde vorher angesetzt werden soll und dem diffusen Lichte ausgesetzt wurde. Sofort nach dem

* Sehrwald hat auch, was mir früher entgangen war, das Hydrochinon zu dem Zwecke schon versucht.

** Vor Obregia hat nach den Angaben von Flechsig Held die Goldfärbung angewendet.

Einlegen der Schnitte stellt man das Gefäss ins Dunkle. Das Silber wird allmählich durch das Gold ersetzt (das Quecksilber in Sublimatpräparaten in Goldamalgam verwandelt). Schliesslich treten schwarze Zeichnungen auf weissem Felde hervor. Je nach der Dicke der Schnitte muss die Flüssigkeit 15—30 Minuten einwirken. Etwas mehr schadet nicht viel. Darauf werden die Schnitte rasch in 50%igem Alkohol, dann in destillirtem Wasser abgespült, endlich in eine 10%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron gebracht, in der sie je nach der Dicke 5—10 Minuten verweilen. Zu lange Einwirkung schadet! Schliesslich werden die Schnitte in destillirtem Wasser gründlich ausgewaschen. Während der Gold- und Natronbehandlung dürfen die Schnitte nur mit Glasnadeln berührt werden. Jede beliebige Nachfärbung ist möglich.

Pal verwandelt das Silber in den Schnitten durch Behandlung mit Natriumsulfid in Schwefelsilber, um dann nachfärben zu können. Will man nach Weigert die Markscheiden färben, so muss man die Schnitte aufs sorgfältigste in Wasser abwaschen und für 24 Stunden in eine $^1/_2$%ige Lösung von Chromsäure bringen. Dann werden die Präparate des Centralnervensystems in der üblichen Weise nach Weigert gefärbt.

Auch Zimmermann hat die Silberverbindung in Schwefelsilber umgewandelt. In eine Schale mit 100 Ccm. Alkohol absolutus werden unter Umrühren 2—3 Tropfen besten Schwefelammoniums geträufelt und dahinein die Schnitte aus dem Alkohol gebracht. Das Schwefelammonium dringt sehr schwer ein, man muss es daher $^1/_2$—1 Stunde unter häufigem Umrühren einwirken lassen. Hat man etwas zuviel Schwefelammonium genommen oder zu lange einwirken lassen, so können sich die Niederschläge zum Theile oder ganz lösen und so verschwinden. Mit einiger Vorsicht bekommt man jedoch sehr schöne Präparate, die man nach dem Auswaschen in Alkohol beliebig nachfärben kann.

Sehr leicht kann man ferner — Sehrwald hat das auch alles ausprobirt — die Silberverbindung der Schnitte in Chlor-, Jod- oder Bromsilber überführen, das dann leicht durch Einwirkung des Lichtes in metallisches Silber verwandelt werden kann.

Greppin bringt die Schnitte zu dem Zwecke in eine Lösung von 10%igem Acidum hydrobromicum. Die ursprünglich gelbbraune Farbe der Schnitte macht augenblicklich einer strohgelben, dann einer weissen Platz. Wässert man solche Präparate gründlich aus, so sind sie sehr unveränderlich. Durch Sonnenlicht kann das Bromsilber reducirt werden, wobei dann die einzelnen Formelemente schwarz und scharf hervortreten.

Zimmermann verwandelt den Niederschlag in Chlorsilber. Die Schnitte werden aus dem Alkohol in folgende Flüssigkeiten übertragen: Physiologische Kochsalzlösung 100, Alkohol 96% 200.

Wegen des geringen Kochsalzgehaltes muss man ein grösseres Flüssigkeitsquantum nehmen. Während man umrührt, bemerkt man, wie die Präparate, resp. die Niederschläge sehr schnell blassgelb werden, wenn auch die Schnitte dick sind. Es geht also die Umwandlung sehr schnell vor sich. Beobachtet man sie auf dem Objektträger, so sieht man sie bei dünneren Schnitten fast plötzlich eintreten, während sich die Flüssigkeit durch chromsaures Natron gelb färbt. Der Vorsicht halber lässt man am besten die Schnitte 10—15 Minuten in der Flüssigkeit (häufig umrühren) und überträgt sie dann in 75—96%igen Alkohol, worin sie auf weissem Untergrund im hellen Zimmer liegen bleiben, bis die Niederschläge genügend dunkel erscheinen, was bei genügendem Licht in einem halben Tage erreicht ist. Schneller wirkt direktes Sonnenlicht, doch wird, wenn man nicht vorsichtig ist, der Grund leicht etwas zu dunkel. Zum Nachfärben empfiehlt Zimmermann Thionin oder Safranin. Das erstere färbt am schönsten, wenn man

anfangs dem Kalium bichromicum statt der Osmiumsäure Formaldehyd zugefügt hatte. Es färben sich dann z. B. bei Präparaten vom Centralnervensystem die ganzen Ganglienzellen blau, so dass unvollständig mit Silberniederschlägen gefärbte Zellen durch die Thioninfärbung noch ergänzt werden.

KALLIUS, der bei dem Umwandeln des Niederschlages in Chlor, Jod oder Bromsilber keine besonders guten Resultate hatte, benutzte dann zur Reduktion des Silbersalzes zu metallischem Silber den photographischen Hydrochinonentwickler. Von dem käuflichen sogenannten fünffachen Hydrochinonentwickler: Hydrochinon 5,0 Grm., Natrium sulfurosum 40,0 Grm., Kalium carbonicum 75,0, Aqua destillata 250,00, nimmt man 20 Ccm. auf cirka 250 Ccm. Wasser. Vor dem Gebrauche lässt man die Lösung am besten einige Tage stehen. In dunkler Flasche hält sie sich wochenlang, wird nur etwas gelblich. Wenn der Entwickler sehr lange gestanden hat, muss man sich vor dem Gebrauche davon überzeugen, ob er noch reducirend wirkt. Vor dem Gebrauch giesst man zu einem Schälchen dieser Flüssigkeit ungefähr den dritten Theil bis die Hälfte absoluten Alkohol. Man darf aber nicht zuviel Alkohol hinzufügen, da sonst die Pottasche ausgefällt wird. Sollte ein derartiger Niederschlag auftreten so braucht man nur von der Hydrochinonlösung eine geringe Menge zuzusetzen, dann wird das Kalium carbonicum in ganz kurzer Zeit wieder aufgelöst. Der absolute Alkohol darf deswegen nicht fortgelassen werden, weil sonst die Schnitte, die ja gewöhnlich aus mehr oder weniger starkem Alkohol kommen, einer zu heftigen Diffusionsströmung ausgesetzt werden, die mitunter Niederschläge aus dem Gewebe herausschwemmt. Hierin bleiben die Schnitte, die man vorher durch häufiges Wechseln des Alkohols möglichst vollständig von dem in ihnen enthaltenen Argentum nitricum befreit hat, mehrere Minuten. Um kontrolliren zu können, ob die Reduktion beendet ist, kann man dann die Schnitte in eine Lösung von Fixirnatron bringen. das den nicht reducirten Niederschlag auflöst. Wenn man erst einigemale die Methode benutzt hat, wird man diese Probe entbehren können.

Die Schnitte, die sich fast immer grauschwarz gefärbt haben, werden dann in 70%igem Alkohol 10—15 Minuten lang ausgewaschen, kommen für 5 Minuten in eine Lösung von unterschwefligsaurem Natron (ca. 10,0 : 50,0) und zuletzt in eine Schale mit mehrfach zu wechselndem destillirten Wasser. worin sie bis zu 24 Stunden verweilen mögen. Meist hat dann der Grund der Schnitte eine helle weissliche bis leicht gelbliche Farbe angenommen. auf dem die schwarzen Silberbilder sehr deutlich hervortreten. Die Präparate vertragen dann jede weitere Behandlung. Selbst die feinsten Niederschläge brauchen sich nicht zu verlieren und die Präparate sind unbegrenzt haltbar.

Eine Reihe von Forschern hat mit der Methode gute Erfolge erzielt. Auf Stücke sind alle diese Fixirungsmethoden nicht anwendbar. STÖHR hat aber dicke Schnitte mit Hydrochinon reducirt und sie dann nach dem Einbetten in feine Schnitte zerlegt.

III. Specielle technische Vorschriften.

Im folgenden seien einige von den speciellen Angaben für bestimmte Organe und Gewebe zusammengestellt. Natürlich sind nicht für alle derartige Specialvorschriften vorhanden. Für die hier nicht aufgezählten Fälle genügen die im allgemeinen Theile angeführten Vorschriften vollkommen.

1. Centralnervensystem.

Am allerbesten eignen sich zum Studium kleinere Thiere oder Embryonen, deren Gehirne etc. leicht in toto geschnitten werden können und dann topographisch übersichtliche Bilder liefern.

Für das Gehirn des Menschen hat FLATAU eine genaue Vorschrift der Sublimatmethode gegeben, die gute Resultate liefert.

Das Gehirn (eventuell 1—2 Tage p. m.) wird in toto 2—3 Monate in einer 3—4 %igen Lösung von Kalium bichromicum gehärtet. Dann entnimmt man aus den zu untersuchenden Stellen kleinere Stücke und legt sie in eine wässerige Sublimatlösung von 1 : 1000; auf jedes Stück muss mindestens 30 Ccm. Flüssigkeit kommen. In den ersten 2—3 Wochen wechselt man alle 2—3 Tage, bis keine gelbe Farbe mehr abgegeben wird. Alsdann bleiben die Stückchen 9—12 Monate in der letzten Flüssigkeitsmenge. Die Sublimatbehandlung muss im Dunkeln stattfinden. Darauf werden die Stücke in Celloidin eingebettet.

SALA hatte beim Pes hippocampi die besten Erfolge mit der langsamen Golgimethode (Tränkung des Stückes während 20—30 Tagen in 2 %iger doppeltchromsaurer Kalilösung und 0,75 %iger Silbernitratlösung) und mit dem raschen Verfahren (Tränkung der Stücke während 4—5 Tagen in 2 %iger Lösung von Kali bichromicum, hierauf 24—30 Stunden in einer aus zwei Theilen einer 1 %igen Osmiumsäurelösung und acht Theilen einer 2 %igen doppeltchromsauren Kalilösung bestehenden Mischung und schliesslich in 0,75 %iger Silberlösung).

Zur Färbung der Elemente des Ammonshornes hat CAJAL die einfache und oft auch die doppelte schnelle Imprägnation benutzt. Die Zeit der Fixirung schwankt zwischen zwei und vier Tagen. Sehr vortheilhaft hat sich auch die Methode von COX erwiesen Diese wurde folgendermassen angewendet: Nicht zu grosse Stücke kommen in die oben pag. 478 angegebene Lösung. Hierin bleiben die Stücke 2—3 Monate im Winter, mindestens einen Monat im Sommer. Beschleunigend wirkt ein vorheriges Einlegen in Alkohol (30 %) für $^1/_2$—1 Stunde. Die Schnitte kommen in starken Alkohol (90 %) in Nelkenöl und dann in Xylol-Damar (ohne Deckglas). Auch diese Methode giebt bessere Resultate bei jungen Thieren als bei alten. Wenn es sich darum handelt, dicke Nervenfasern, Zellkörper und Protoplasmafortsätze zu färben, dann ist diese Methode ausgezeichnet, sollen aber feinste Kollateralen gefärbt werden, dann giebt CAJAL der GOLGI'schen Silbermethode den Vorzug, weil bei der COX'schen Methode die feinsten Fasern blasser sind und sich nicht so deutlich abheben.

Für das Studium des Corpus callosum und der Grosshirnrinde benutzt CAJAL besonders kleine, einige Tage alte Thiere.

Der günstigste Zeitpunkt, um eine Färbung der Rindenzellen zu erhalten, ist nicht bei allen Thieren der gleiche. Bei der Maus z. B. ist die beste Zeit zwischen dem 8. und 25.—30. Tage. In den ersten Tagen nach der Geburt sind die Elemente noch so wenig entwickelt, dass man keine guten Bilder erhält. Beim Kaninchen ist die Gehirnrinde bei der Geburt schon besser entwickelt und der günstigste Zeitpunkt liegt daher der Geburt näher, zwischen dem 1.—15. Tage. Bei den Embryonen der Mäuse, Ratten, Kaninchen imprägniren sich die Nervenzellen nur sehr unsicher, dagegen die Epithelien, Blutgefässe und Nerven sehr sicher, falls die zur Härtung bestimmte Zeit 2—3 Tage nicht überschreitet. Bei neugeborenen Säugethieren einer gewissen Grösse, Kaninchen, Meerschweinchen, Katze, und natürlich erst recht, wenn sie älter sind, muss man die Stücke in Osmiumbichromat zwei, drei oder fünf Tage härten. Die Zeit der Härtung wechselt je nach der Thierart und je nach dem Alter, dasselbe gilt von der Färbung bestimmter Elemente und der Nichtfärbung anderer. So muss man, um die Zellen der Molekularschicht beim Kaninchen zu färben, ungefähr 5 Tage härten (Kaninchen von 8 Tagen), während die Kollateralen der weissen Substanz 6—7 Tage erfordern. Sehr wichtig ist es, um gute Resultate zu erzielen, dass man stets dieselbe Temperatur anwendet. Verfasser hat wäh-

rend des Winters eine solche von 25—26° gewählt (Thermostat). Bei niederen Temperaturen erfordert die Härtung mehr Zeit, deren Dauer man durch Versuche feststellen muss. Die Dicke der einzulegenden Stücke sollte 0,5 Cm. nicht überschreiten, für ein solches Stück würde dann 25—30 Ccm. der Härtungsflüssigkeit erforderlich sein.

Bisweilen erhält man schlechte Resultate, weil die Härtung zu lange gedauert hat. In diesem Falle bringe man das Präparat nach dem Silberbade noch einmal in die Härtungsflüssigkeit für 24—36 Stunden und dann wieder in Silber. Man erhält so oft Imprägnationen, die vollständiger sind als sonst und sich sogar auf die bindegewebigen muskulären und knorpeligen Elemente erstrecken. Auch nervöse Elemente färben sich dann, die sich sonst fast niemals färben.

Zur Vermeidung der Niederschläge auf der Oberfläche kann man die Martinotti'sche und Sehrwald'sche Methode wählen (siehe diese pag. 480) oder auch Arachnoides und Pia auf der Oberfläche sitzen lassen. Oft erreicht man auch mit einer auf dem Präparat hergestellten Blutschicht den Zweck.

Der Zusatz von 1—2 Tropfen koncentrirter Chromsäurelösung zur Härtungsflüssigkeit erwies sich als günstig zur Färbung der Kollateralen. Die Säure beschleunigt die Härtung und erleichtert bei kleinen Säugethieren das Schneiden des Rückenmarkes zugleich mit der Wirbelsäule, da sie eine Entkalkung des Knochens bewirkt.

Andriezen hat speciell für das menschliche Gehirn von einer komplicirteren Fixirung besondere Vortheile gehabt. Das Material war cirka 24 Stunden alt. 3—4 Mm. dicke Stücke kamen in reichliche Menge von Kalium bichrom. 2% 95 Theile, Acid. osmic. 1% 5 Theile im Dunkeln für 24 Stunden. Kurz vor der Anwendung wurden 100 Ccm. der Mischung ein Tropfen einer koncentrirten Lösung von Acidum chromicum und ein Tropfen Acid. formicic. pur. zugesetzt. Alsdann kam das Material in eine Mischung von Kalium bichromic. $2\frac{1}{2}$% 90 Theile, Acid. osmic. 1% 10 Theile für zwei Tage. Darauf bis zu vier Tagen in Kalium bichr. 3% 80 Theile. Acid. osmic. 1% 20 Theile.

Nach dem Abwaschen der Präparate in destillirtem Wasser (1—2 Sekunden lang) kamen sie in 0,75%ige Lösung von Argent. nitr., die zuerst bald (5—15 Minuten) gewechselt wurde, an einem Glashaken frei aufgehängt 3—6 Tage in den Brütofen bei 25—27° C. Nach Einbettung in Celloidin wurden die Schnitte in einer Mischung von Xylol und Pyridin (aa.) aufgehellt und ohne Deckglas in Xylol-Damar aufbewahrt.

Zur genauen Untersuchung der Ganglienzellenentwicklung bei der Maus hat Stefanowska die schnelle Golgimethode, eventuell mit doppelter und dreifacher Anwendung benutzt. In den ersten Tagen nach der Geburt ist die Imprägnation sehr schwierig; unter sonst gleichen Bedingungen geht die Imprägnirung des Gehirns bei sehr jungen Mäusen weit langsamer vor sich als beim erwachsenen Thiere. Lässt man die Hirnrinde einer erwachsenen Maus drei oder vier Tage in der Osmiumbichromatlösung und zwei oder drei Tage im Silbernitrat, so erhält man ausgezeichnete Präparate, die vollständig durchsichtig sind und keine oberflächlichen Niederschläge zeigen. Bei der jungen Maus gebraucht man dagegen oft die dreifache Zeit. Ist der Aufenthalt in den Reagentien nicht lange genug gewesen, so zeigen sich nur einige Zellen imprägnirt, diese treten deutlich hervor, sind aber äusserst selten. Die oberflächlichen Niederschläge abzuhalten, ist die Methode von Sehrwald gut geeignet. Trotz aller Bemühungen gelingt es kaum, genaue Regeln aufzustellen: unter denselben Umständen waren die Präparate bald gut, bald schlecht. Die Schwierigkeiten mindern sich mit der fortschreitenden Entwicklung, vom 8. Tage nach der Geburt an kann man

auf sichere Resultate rechnen. Auch die störenden Niederschläge werden immer geringer.

Ein möglichst schneller Tod der Thiere (Dekapitation) soll für die Erhaltung der Zellen wichtig sein, denn durch die Aufregung, Schmerz etc. sollen die Zellen alterirt werden.

Mondino bringt ganz frische Kleinhirne in Müller'sche Lösung oder in 2%ige Kaliumbichromatlösung, oder, was noch besser ist, er injicirt durch die Karotiden in das in der Schädelhöhle belassene Gehirn die Müller'sche Flüssigkeit langsam unter konstantem Druck, bis wegen der eingetretenen Härtung und der Verstopfung der Kapillaren keine Flüssigkeit mehr hindurch läuft. Dann wird das Gehirn mit oder ohne Häute aus der Schädelkapsel entfernt und kommt für einige Monate in Müller'sche Flüssigkeit. Je länger die Stücke in dieser Flüssigkeit verweilen, um so länger müssen sie auch in der Sublimatlösung bleiben. Diese wird ½%ig genommen; sobald sie gelb geworden ist, muss sie gewechselt werden, hört dies auf, so kann die Flüssigkeit, wenn sie nur in reichlicher Menge vorhanden ist, auf den Präparaten stehen bleiben. So bleiben sie mindestens drei Wochen stehen, ehe man die Schnitte anfertigt. Das Gehirn wurde mit Paraffin umgossen und auf dem Gudden'schen Mikrotom geschnitten.

Zur Imprägnation des Kleinhirnes benutzte Athias Embryonen oder Neugeborene von Säugethieren, bei denen man stets leicht die Neurogliazellen färben kann. Für die Nervenzellen sind zwei bis vier Tage der Einwirkung des Osmiumbichromatgemisches erforderlich, für die Nervenfasern fünf bis sechs Tage. Die doppelte Imprägnirung war oft vortheilhaft.

Cajal hat das Gehirn von Vögeln so behandelt, dass er frische Stücke auf zwei oder mehr Tage in Müller'sche Flüssigkeit brachte, dann auf 24 Stunden oder länger in ein Gemisch von Osmiumsäure oder Müller-sche Flüssigkeit übertrug. Seltener wurde ein Gemisch von Kaliumbichromat mit Osmiumsäure benutzt. Den Silberlösungen wurde gelegentlich mit Vortheil etwas Essigsäure (cf. pag. 480) zugesetzt, auch wurden öfter etwas schwächere Osmiumbichromatmischungen verwendet, als Golgi empfohlen hatte.

Ganz besonders vortheilhaft hat sich für das Centralnervensystem der Ersatz der Osmiumsäure durch das Formaldehyd erwiesen. Kopsch empfiehlt, das Gehirn in seiner Mischung (cf. pag. 479) 3—6 Tage zu lassen. Längere Einwirkungsdauer schadet nicht viel. Allerdings wurden die Blutgefässe meist sehr vollständig gefärbt, was mitunter störend ist. Niederschläge sind nicht sehr zahlreich, darin besteht der Hauptvortheil der Methode.

Strong empfiehlt statt der Osmiumsäure ebenfalls Formaldehyd. Er nimmt die Mischung einer 3,5%igen Kalium bichromicum-Lösung 100 Theile mit Formol 2,5—5 Theile. Nach einigen Tagen kommen die Stücke (Gehirn vom Erwachsenen) in 1%ige Silberlösung. Oder man kann auch die Objekte, nachdem sie 1—2 Tage in der angegebenen Bichromat-Formolmischung gelegen haben, in eine Mischung von 2 Theilen einer 5%igen Lösung des doppeltchromsauren Kali mit 1 Theil Formol bringen. Nach 12—24 Stunden kommen die Stücke dann in Silberlösung. Es soll diese Modifikation noch besser sein als die von dem Verfasser angegebene Lithiumbichromatmethode. Für embryonales Gehirn empfiehlt der Verfasser allerdings Lithium bichromicum mit Formol, da diese Mischung besser härtet.

Auch bei der Formolmodifikation kann, wie Durig gezeigt hat, die doppelte Methode der Imprägnation Verwendung finden. Er legte ½ Cm. grosse Stücke für 3 Tage in Formol 4—6% (die Stammlösung als 40% berechnet) und Kalium bichromicum 3%; dann wie gewöhnlich in

die Silberlösung. Nach 2 Tagen kamen die Stücke wieder in das erste Gemisch zurück, dann wieder in die Silberlösung, der eine Spur von Ameisensäure zugesetzt war. Länger als 8 Tage sollen die Stücke nicht in der Silberlösung verweilen.

Vassale und Donaggio fügen den Aldehyd zur fixirenden Flüssigkeit der Golgi'schen Methode. Sie verfahren folgendermassen: Kleine Stücke von höchstens 1 Cm. Seitenlänge kommen für 15—20 Tage in ein Gemisch von 5 Theilen koncentrirtem Aldehyd auf 100 Theile einer 3—5%igen wässerigen Lösung von doppeltchromsaurem Kali. Nach den ersten Tagen wechselt man die Flüssigkeit einmal. Genau zu dem Zeitpunkt, zu dem sich die Stücke anfangen dunkler zu färben, überträgt man sie zur gewöhnlichen Weiterbehandlung in die Silberlösung.

Man kann, wie Gerota, Lenhossék und Bolton gezeigt haben, die beiden Flüssigkeiten auch nacheinander einwirken lassen. Ersterer empfiehlt 1—2 Wochen in Formol gehärtete Gehirne für 3—5 Tage in eine 4%ige Lösung von Kalium bichromicum und dann für 10—20 Tage und länger in die Silberlösung zu bringen.

Bolton härtet zunächst die ganzen Gehirne in 5%iger Formollösung. (Menschliche Gehirne in 2—12 Monaten.) Dann werden Stücke von nicht mehr als 3 Mm. Dicke ausgeschnitten, diese in Formol (5%) in Keile zerschnitten, die eine Basis von 6 Mm. haben und ein Stückchen weisse Substanz enthalten. Diese kommen dann in eine 1%ige Lösung von Ammonium bichromic., ohne ausgewaschen zu sein, bis zu 5 Tagen. Dann kommen sie in eine 1%ige Silberlösung für 24 Stunden.

Für das Rückenmark hat Lenhossék bei der schnellen Golgi'schen Methode folgende Termine für günstig zur Färbung bestimmter Gebilde gefunden:

1. Neuroglia 2—3 Tage, 2. Nervenzellen 3—5 Tage, 3. Nervenfasern, Kollateralen 5—7 Tage.

Nansen hat für die Färbung des Rückenmarkes von Myxine folgende Modifikation angewendet. Das Rückenmark wird zusammen mit den nächst umgebenden Theilen dem lebenden Thiere entnommen und in Stücke von ein oder ein paar Centimeter Länge zerschnitten. Diese kommen für eine Stunde in eine 2—2,5%ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali, dann für 24 Stunden in eine von 3% und mehr, dann für 3 Tage in eine Mischung von Kalium bichromicum 3% 4 Theile, Acid. osmic. 1% 1 Theil.

Je nach der Temperatur geben auch Lösungen mit mehr oder mit weniger Osmium bessere Resultate. Dann kommen die Präparate in Silbernitrat, zuerst Abwaschen in einer 0,5%igen Lösung, dann für 1 Tag in eine stärkere (bis 1%), Schneiden, Montiren wie gewöhnlich.

Monti hat für Fische die Mischung von 4 Theilen 3%igen Kaliumbichromats und 1 Theil ½%iger Osmiumsäure vorgeschlagen. Die Lösung ist zu erneuern, sobald sie nicht mehr nach Osmium riecht. Am 4. oder 5. Tage kommen die Präparate in das Silberbad. Monti hat alle Manipulationen im Dunkeln vorgenommen.

Das Rückenmark junger und älterer Kaulquappen behandelt Athias so, dass er jüngere Thiere 2—3 Tage, ältere 3—5 Tage in der Osmiumbichromatlösung liess, dann für 1—2 Tage in die Silberlösung brachte. Mitunter ergab erst die doppelte oder dreifache Imprägnation gute Resultate. Am besten gelingt sie bei Thieren von 2—3,5 Cm. Länge.

Auch beim Nervensystem von Wirbellosen hat sich die Golgi'sche Methode ausgezeichnet bewährt. Kleine Thiere (Crustaceen etc.) kann man ganz oder in Theile zerlegt (Antennen), ohne sie zu schneiden, imprägniren und aufhellen. Für Pulmonaten hat Nabias vorgeschlagen, die Ganglien gleich nach der Behandlung mit Osmiumsäure und Sublimat in Celloidin einzubetten und erst die Schnitte mit Höllenstein zu behandeln.

Die Gliazellen in dem Nervensystem von Helix können am besten dargestellt werden bei Einwirkung von 5%iger Lösung von Kaliumbichromat gemischt mit 1%iger Osmiumsäure für die Zeit von 8—10 Tagen. Die Silberlösung ist dann 0,75—1%. RETZIUS empfiehlt für Lumbricus die Stücke 3 Tage lang in Osmiumbichromat zu lassen, dann in die Silberlösung zu legen. Die Härtung erfolgte bei 25—30°.

Für die Untersuchung des sympathischen Nervensystems empfiehlt CAJAL folgendes: Hierzu eignen sich Embryonen weit mehr als erwachsene Thiere, und von diesen besonders Hühnerembryonen vom 14.—18. Tage der Bebrütung. Von den Abtheilungen des Sympathicus ist der Halstheil am günstigsten, nicht nur wegen der bedeutenden Grösse seiner Ganglien, sondern hauptsächlich auch, weil diese Ganglien so nahe an den Spinalganglien liegen, und man daher leicht ihre Verbindungen zu verfolgen vermag. Besonders günstig liegt hierfür das Ganglion cervicale supremum. Die Stücke des Halses werden in dem Bichromatosmiumgemisch 3 Tage gehärtet. Man achte darauf, dass die prävertebralen Weichtheile so weit erhalten bleiben, dass die sympathischen Ganglien noch von ihnen bedeckt sind, damit die Härtungsflüssigkeit sie mit einer gewissen Langsamkeit erreicht. Dann kommen die Stücke in eine Silbernitratlösung von 0,75% oder 0,5% für 36 Stunden. Darauf bringe man die Präparate in dieselbe Härtungsflüssigkeit oder in eine neue, die Osmiumsäure im Verhältniss von 2 : 20 enthält; dann lasse man die Stücke nach schnellem Abwaschen in destillirtem Wasser für 36—48 Stunden in der Silberlösung.

Die sympathischen Nerven und Spinalganglien färbt GEHUCHTEN auf folgende Weise. Die dem durch Chloroform getödteten Thiere entnommenen Stücke kommen in eine Lösung vom Kalium bichrom. 3% und Osmiumsäure 1% im Verhältniss von 4 : 1. Darin verweilen sie 3 Tage im Dunkeln bei Stubentemperatur. Nach schnellem Abwaschen in destillirtem Wasser kommen sie in 0,75%ige Silberlösung. Der Zusatz von Ameisensäure ist überflüssig. Nach dortigem Verweilen von zwei Tagen (im Dunkeln) werden sie wieder schnell in destillirtem Wasser abgewaschen und kommen in dieselbe Bichromatmischung wie zu Anfang für 3 Tage; darauf kommen sie wieder in die Silberlösung nach kurzem Abwaschen, wo sie mindestens 2 Tage verweilen müssen.

JUTCHTSCHENKO färbt die sympathischen Ganglien so, dass er die Präparate, die je nach Grösse 1, 2, 5, 7 Tage in der Chromatosmiummischung gelegen haben, nach kurzem Abspülen in Wasser und leichter Abtrocknung auf Fliesspapier in eine 2—3%ige, 0,25—0,5% Osmiumsäure enthaltende Lösung von Argentum nitricum bringt, wo sie 2—3 Tage bleiben.

Auch um specielle Strukturen der Ganglienzellen und Fasern zu untersuchen, eignet sich die GOLGI'sche Methode ausgezeichnet.

GOLGI hat drei verschiedene Methoden angegeben, nach denen man die nach ihm benannten netzförmigen Strukturen in den Ganglienzellen färben kann. 1. Nach seiner schnellen Methode, wobei er folgende neue Modifikation benutzt:

Kalium bichromic. 3% 2 Theile, Acidum osmicum 1% 1 Theil.

Die netzförmigen Strukturen färben sich früher als die Körper der Ganglienzellen nach der klassischen Methode. Man muss aber sehr sorgsam die Zeit ausprobiren, die von so vielen äusseren Umständen abhängig ist, dass sich keine näheren Angaben machen lassen. 2. Nach der schnellen indirekten Methode; die Stücke werden so wie oben angegeben gehärtet und dann mit der oben angegebenen Verjüngungsmethode behandelt, durch die Stücke, die monatelang im Osmiumbichromat lagen, noch gerettet werden können. Die Mischung hat die Zusammensetzung:

Kalium bichrom. 2 oder 3%, Cuprum sulfuricum 4 oder 5% zu gleichen Theilen.

Die Zeit, die zur Verjüngung nothwendig ist, hängt von der Zeit der Härtung ab, sie schwankt zwischen 8 Stunden und 10 Tagen und mehr. Dann kommen die Stücke direkt in die Silberlösung. Statt des Cuprum sulfuricum kann man auch Cuprum aceticum nehmen, muss dann aber die Mischung filtriren. Stücke, die gar zu lange schon in der ersten Lösung fixirt waren, behandelt man mit halb verdünnten gesättigten Lösungen des Kupfersalzes. Dann muss man die Präparate aber vor der Silberbehandlung in das Osmiumbichromatgemisch zurückbringen.

3. Methode von Veratti. Die Stücke kommen in folgende Lösung:

Kalium bichromic. 5% 30 Theile, Platinchlorid 1‰ 30 Theile, Acid. osmic. 1% 15—30 Theile. Die weitere Behandlung ist wie bei 1. oder 2.

Um die Methoden kennen zu lernen, empfiehlt Golgi, die Spinalganglien junger Thiere zu benutzen. Lässt man die Präparate 5, 10, 15 Tage in der 3. Mischung, 1, 2, 3 Tage in der Verjüngungsflüssigkeit, dann bekommt man gute Resultate.

Für die Färbung der an den peripherischen Nerven beobachteten feineren Strukturen hat Golgi ebenfalls seine Methode verwendet.

Einem soeben getödteten Thiere (am besten Kaninchen) wird mit der grössten Vorsicht irgend ein Nerv entnommen und sogleich in die Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung gelegt:

Kalium bichromicum 2% 10 Theile, Acid. osmic. 1% 2 Theile.

Wenn die Festigkeit des Nervenstammes einigermassen zugenommen hat, was ungefähr nach einer Stunde der Fall ist, zerschneide man ihn der Länge nach in 0,5—1 Cm. lange Stücke, die sogleich in die Flüssigkeit zurückgebracht werden müssen. 4 Stunden nach dem Beginn der Härtung fängt man an, ein Stückchen der Nerven in eine 0,5%ige Argentum nitricum-Lösung zu legen und fährt damit von 3 zu 3 Stunden fort. Im Silber müssen die Stücke mindestens 8 Stunden liegen. Dann Alkohol, Terpentinöl, Damar.

Eine zweite Methode besteht darin, dass peripherische Nerven oder auch Rückenmarksfasern in die Bichromatlösung gebracht werden. Während letztere aber 10—15 Tage darin verweilen müssen, genügen für erstere 4—6—8 Stunden bis zu einem bis höchstens 2 Tagen. Während dieser Dauer werden von Zeit zu Zeit Nervenstückchen aus dem Bichromat in das Silber übertragen.

Aus dem Silbernitrat kommen die Präparate in Alkohol, in dem sie eine Art von Auswaschung erleiden müssen, indem man den Alkohol zwei- oder dreimal erneuert, um das salpetersaure Silber fortzuwaschen. In dem Alkohol können die Fasern vorsichtig zerzupft werden und dann werden sie durch einen 10—15 Minuten dauernden Aufenthalt in absolutem Alkohol vollständig entwässert, in Terpentinöl durchsichtig gemacht und zuletzt in Damarfirniss eingeschlossen. Hierauf muss die Vollendung des Präparates den Sonnenstrahlen überlassen werden. In diesem Zustande nehmen die Fasern in einer Zeit, die zwischen wenigen Tagen im Sommer und mehreren Wochen im Winter wechseln kann, während der rothe Niederschlag sich auflöst, zuerst eine diffus-strohgelbe Färbung an; dann werden in ihnen die Spiralfäden nach und nach deutlich und die Umrisse der trichterförmigen Apparate erscheinen mit allen ihren Verschiedenheiten.

Die nach dem ersten Verfahren erhaltenen Präparate bieten den Vortheil, die Spiralen deutlicher und regelmässiger zu zeigen, lassen sich aber im Damar nicht erhalten. Die der zweiten Art lassen die Spiralen nur schwierig in bedeutender Ausdehnung und Regelmässigkeit erkennen, haben aber den Vortheil, auf unbestimmte Zeit haltbar zu sein.

Sala hat dann die trichterförmigen Stützapparate und andere feine Strukturen an den peripherischen Nerven nach der von Veratti (s. oben) vorgeschlagenen Modifikation dargestellt.

2. Retina.

Diese hat den Untersuchern meist grosse Schwierigkeiten gemacht, und doch sind bei einiger Vorsicht ganz leicht zufriedenstellende Resultate zu erzielen, so dass ich wohl sagen kann, dass bei richtiger Wahl des Objektes ein vollständiges Versagen der Methode bei diesem Organ nicht zu fürchten ist. Die ausführlichsten technischen Anleitungen hat hierfür Cajal gegeben, dem auch auf diesem Gebiete zweifellos die grössten Erfahrungen zur Seite stehen.

Bei der Retina ist nach Cajal die schnelle Golgi'sche Methode etwas unsicher, namentlich für die kleinen Netzhäute der Fische, Reptilien und Batrachier. Im allgemeinen kann man sagen, dass, je zarter die Netzhaut ist, umso schwieriger eine gute Imprägnirung zu erhalten ist. Deshalb ist es gut, unter den Thieren einer Familie diejenigen zu den Versuchen zu benutzen, die die dicksten Netzhäute besitzen. So erhält man z. B. fast immer zufriedenstellende Resultate bei der Retina von Lacerta viridis während unter den gleichen Verhältnissen es fast unmöglich ist, die zarte Netzhaut von Lacerta agilis zu färben. Bei diesen hat man noch am meisten Erfolg, wenn man statt der einfachen die doppelte Imprägnirung anwendet.

Verfasser legt die hintere Bulbushälfte nach Entfernung des Glaskörpers in die gewöhnliche Osmiumbichromatmischung. Nach 24—48 Stunden trocknet man die Stücke auf Fliesspapier und bringt sie für 24 Stunden in die 0,75%ige Silberlösung. Für die doppelte Imprägnirung bringt man die Stücke in dieselbe Osmiumbichromatlösung, im Falle diese noch Osmiumsäure enthält. Ist das nicht mehr der Fall, dann setzt man einige Tropfen frischer Osmiumsäure zu. Oder man kann auch eine neue Mischung ansetzen, die aber dann weniger Osmium enthält als die erste (20 Ccm. der Bichromatlösung und 2 oder 3 der 1%igen Osmiumsäure). Zuviel Osmiumsäure macht die Gewebe zu leicht brüchig. Dann kommen die Stücke wieder für mindestens 24 Stunden in Silber. Nach oberflächlichem Umgiessen mit Paraffin werden die Retinae in dicke Schnitte zerlegt.

Die Niederschläge auf der Oberfläche hat Cajal vermieden, indem er die Retina vor dem Silberbad mit einer dünnen Schicht Celloidin umgab, das aber nicht antrocknen darf; oder z. B. mit Peritoneum bedeckte. Am zweckmässigsten hat sich die Aufrollung der Retina erwiesen: Wenn man den Glaskörper entfernt hat, löst man die Retina, nachdem man sie am Opticuseintritt abgeschnitten hat, vorsichtig mit Hilfe eines feinen Pinsels von der Choroidea ab und rollt sie so zusammen, dass sie einen dicken cylindrischen Körper darstellt. Um die Wiederaufrollung in der Flüssigkeit zu vermeiden, taucht man diese Rolle kurz in eine 2%ige Celloidinlösung, wartet einige Sekunden ihr Erstarren ab und legt das Ganze sofort in die Osmiumbichromatlösung. Die aufgerollte Retina härtet wie eine kompakte Masse, behält ihren Zusammenhang auch während des Schneidens, wobei die Schnitte die ganze Dicke des Stückes umfassen können. So vermeidet man die Oberflächenniederschläge, nur an der ersten Aufrollungswindung findet man solche. Ferner ist bei der Dicke des Stückes eine übermässige Härtung nicht zu befürchten, so dass, welches auch die Zeit der Härtung sein mag, ob ein, zwei oder drei Tage, man immer Windungen findet, die gute Reaktion zeigen. Natürlich ist auch hierbei die doppelte oder dreifache Imprägnation verwendbar. Ist die Retina von mittlerer Grösse (Kaninchen, Hund etc.), so kann man aus ihr einen einzigen Block machen, bei den grösseren Säugern (Pferd, Ochs, Schaf) ist es besser, sie in zwei oder drei

Stücke zu zerlegen, um eine unvollkommene Härtung der centralen Theile zu verhüten.

KALLIUS hat ferner erkannt, dass auch bei der Retina sich die einzelnen Elemente sehr gut färben lassen, wenn man die Stücke verschieden lange in dem Osmiumbichromatgemisch lässt. Dabei fand sich, dass nach 12stündigem Verweilen in der Härtungsflüssigkeit häufig nur Stäbchen und Zapfen und einzelne Bipolare, nach weiteren 12 Stunden andere Bipolare und die parareticulären Zellen, dann die Opticusganglienzellen. sich dann die Nervenfasern färben lassen; wenn die nervösen Elemente sich nicht mehr sehr gut imprägniren lassen wollen, dann erscheinen die Stützzellen und die Neuroglia zellen. Die Reihenfolge ist zwar keine absolut konstante, es kommen natürlich manche Abweichungen vor, aber diese Methode erleichtert sicher das Studium der einzelnen Elemente. Statt des Kaliumbichromates hat KALLIUS besonders vortheilhaft das leicht lösliche Natriumsalz in derselben Koncentration gefunden. Dieses gestattet allerdings nicht die doppelte Imprägnirung, die sich auch kaum als nöthig erwiesen hat. Gerade bei der Netzhaut ist die Vermeidung der oberflächlichen Niederschläge absolut geboten, dafür hat sich die SEHRWALD'sche Methode besonders bewährt.

Neuerdings hat weiterhin MARENGHI besondere Vorschriften gegeben, um an der Retina vorzügliche Resultate zu erhalten. Er härtet die Retina, nachdem der Bulbus halbirt ist, oder in situ, indem er das Thier mit der Osmiumbichromatmischung injicirt, der einige Tropfen (auf 100 Ccm.) einer gesättigten Lösung von Schwefelcyankalium zugefügt sind. Letzteres beschleunigt die Härtung ganz ausserordentlich. Nach 8, 10, 16, 20 Stunden kommen die Stücke in die Silberlösung. Später bekommt man keine guten Resultate. Dann kann man aber mit Vortheil die nach GOLGI's Vorschriften ausgeführte Verjüngungsmethode benutzen. Um die oberflächlichen Niederschläge zu vermeiden, wurden die Netzhautstücke in die Schalenhaut von Eiern eingehüllt. Von theoretischen Erwägungen ausgehend, fand MARENGHI es für besonders vortheilhaft, wenn er der Bichromatlösung einige Tropfen Acidum nitricum zusetzte, oder die Retinastücke ganz kurze Zeit in eine verdünnte wässerige Lösung dieser Säure tauchte. Seine Resultate sprechen für seine Methode.

KOPSCH hat seine Formolmischung mit Erfolg auch für die Netzhaut angewendet. Am zweiten Tage färben sich fast nur Stäbchen und Zapfen und die MÜLLER'schen Stützfasern, die Imprägnation der Bipolaren und parareticulären Zellen etc. erfolgt nach einer Einwirkung von 3—6 Tagen. Dann werden die Resultate schnell schlechter.

Auch für den centralen und peripherischen Sehapparat von Wirbellosen (Cephalopoden) hat sich die GOLGI'sche Methode vorzüglich bewährt (KOPSCH. v. LENHOSSÉK).

3. Peripherische Nervenendigungen etc.

Meist genügen die im allgemeinen Theile gegebenen Vorschriften, nur einige besonders bemerkenswerthe Modifikationen der Methoden seien hier angeführt.

Die wichtigste scheint mir hiervon die von SMIRNOW zu sein, der die Nerven in der Haut vom Lumbricus vorzüglich damit darstellen konnte: Stücke des Wurmes von 1,5—2 Cm. werden in eine Mischung von gleichen Theilen einer 5%igen Lösung von Kalium bichromicum und einer 1%igen Lösung von Osmiumsäure gelegt. Nach 5—28 Tagen werden die Stücke herausgenommen und auf 24—36 Stunden in eine 0,75—1%ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen. Dann werden sie in 70%igem Alkohol abgespült, geschnitten, in Terpentinöl aufgehellt und in Damar eingeschlossen. Mit der gewöhnlichen Methode sind diese freien Endigungen nicht

oder doch nur sehr selten darstellbar, man kann damit vielmehr nur die specifischen Sinneszellen in der Haut und centrale Nervenelemente etc. färben.

Ferner gelang es ihm, mit einer ähnlichen Lösung die Tastkörperchen in der Planta pedis zu färben.

Hautstücke von 1 Cm. Länge wurden in die ALTMANN'sche Mischung (5%ige Lösung von Kalium bichromicum und 2%ige Osmiumsäure zu gleichen Theilen) für 3—5—10 Tage gebracht; dann wurden sie in einer schwachen Lösung von Argentum nitricum 1 : 1000 abgespült und blieben dann in einer 1%igen Lösung 18—30—48 Stunden. Auch im Oesophagus des Frosches wurden die Nerven von SMIRNOW nach der oben angegebenen Methode gefärbt (ALTMANN).

KUTMANOW hat mit der SMIRNOW'schen Modifikation auch die Nervenfasern zwischen den Epithelzellen der Magendrüsen gefärbt.

Zur Färbung der Tastorgane an menschlichen Embryonen hat LOWELAND die schwarze Reaktion mit Erfolg benutzt. Die Hauptsache ist, dass das Material ganz frisch verwendet wird. Allerdings konnte er nie wissen, wie lange vor der Ausstossung die cirka 4 Monate alten Embryonen schon abgestorben waren. Nach 38—46 Stunden nahm der Autor die Embryonen aus der Osmiumbichromatmischung und legte sie in die Silberlösung. Da aber die einfache Färbung gewöhnlich keine Resultate gab, kamen die Stücke zum zweitenmale für 24—48 Stunden in die erste Lösung und dann in die Silberlösung. In manchen Fällen war es nöthig, ein drittes- und selbst ein viertesmal den Process zu wiederholen. Die Koncentration der Silberlösung kann zwischen 0,5 und 1% schwanken. Vortheilhaft erwies sich eine Umhüllung mit Gelatine, um die störenden äusseren Niederschläge zu vermeiden. Der Aufenthalt im Dunkeln ist unnöthig. Im Winter stelle man die Präparate warm. Die Einbettung in Celloidin oder Paraffin hat sich gut bewährt.

Um die freien Endigungen in der Haut der Amphibien darzustellen, wählten EBERTH und BUNGE pigmentarme Stellen der Haut von Rana temporaria. (Am besten bewährte sich der Daumenballen des Männchens.)

In die frisch bereitete Lösung von Kalium bichrom. 3,5% 4 Theile, Acid. osmium 1% 1 Theil kamen möglichst kleine Stücke und blieben dort bei einer Temperatur von 23° 5—8 Tage. Dann kamen die Stücke in eine 0,75%ige Lösung von Arg. nitr., von der 200 Ccm. mit einem Tropfen reiner Ameisensäure versetzt wurden.

Hierin bleiben sie im Dunkeln, aber nicht mehr im Wärmeschrank, durchschnittlich 3—6 Tage.

TIMOFEJEW hat behufs Färbung der Nervenendigungen an den männlichen Geschlechtsorganen die GOLGI'sche Methode so modificirt, dass er in einer Mischung 5% Kalium bichrom. 2 Theile, Acid. osmic. 1 Theil (oder auch von beiden gleiche Theile) fixirte; darin blieben die frischen, 1 Cm. langen Stücke bei 25° C. 6—7 Tage im Thermostaten. Die Flüssigkeitsmenge übertraf die des Objektes wenigstens um das 10—15fache. Dann kamen sie für 1—2 Tage in eine 1%ige wässerige Lösung von salpetersaurem Silber. Die Menge der Silberlösung übertraf die des Präparates um das 30—60fache. Auf je 400 Ccm. der Silberlösung setzte Verfasser einen Tropfen Ameisensäure und einige Stückchen schwefelsaures Natron.

Um die Lebernerven gefärbt zu erhalten, soll man nach BERKLEY 1½ Mm. dicke Scheiben der Leber noch warm in eine gesättigte und mit dem gleichen Volumen warmen Wassers verdünnte Pikrinsäurelösung bringen. Nach 15—30 Minuten werden sie ohne Auswaschen in eine Mischung gebracht, die folgende Zusammensetzung hat: Kalium bichrom. in Wasser (koncentrirt im Sonnenlicht) 100 Theile, Osmiumsäure 2% 16 Theile.

Die Lösung muss mehrere Tage vor dem Gebrauche hergestellt und dem vollen Sonnenlicht ausgesetzt sein. Die Härtung der Präparate muss

aber in absoluter Dunkelheit geschehen bei einer Temperatur von nicht weniger als 25° C. Nach 48 Stunden kommen die Stücke in die Silberlösung für 5—6 Tage. (Einbetten in Celloidin, Schneiden, Entwässern, Bergamottöl, Xylol, Kanadabalsam.)

Um die peripherischen Ganglienzellen des Nervus olfactorius in der Riechschleimhaut (z. B. vom Hunde) zu färben, lasse man die Stücke nach GRASSI und CASTRONOVO 7 Tage lang in dem gewöhnlichen Osmiumbichromatgemisch und lege sie dann in Argentum nitricum. CAJAL erhielt schon nach 24—48 Stunden gute Resultate.

Zur Färbung der Nerven des Ovarium hat v. HERFF als Härtungsmittel benutzt: Kalium bichromic. 60,00, Acid. osmicum 1% 500,00, Aqua destillata 2000,00. Darin bleiben die Stücke 6—14 Tage; die Flüssigkeit muss aber häufig erneuert werden. Am besten ist es, verschieden lange Einwirkungsdauer zu benützen und von Zeit zu Zeit Stücke in schwach angesäuerte Argent. nitric.-Lösung zu legen. Die Schnitte werden nach LAWDOWSKY in Sandarakharz eingeschlossen. Man stellt sich eine Lösung von 30 Grm. reinstem Sandarakharz in 40—50 Ccm. absoluten Alkohols und eine zweite mit demselben Quantum Alkohol verdünnte Lösung her. Die Schnitte, in absolutem Alkohol entwässert, werden auf dem Objektträger mit der schwachen Sandarraklösung durchtränkt und dann mit der starken Lösung überstrichen. Man muss darauf achten, dass die Schnitte nicht zu stark eintrocknen und dass sich keine Luftblasen bilden. Nach wenigen Minuten sind die Schnitte leidlich trocken. Waren die Schnitte schlecht entwässert, so bildet sich ein weisser wolkiger Niederschlag, der sich mit Alkohol leicht entfernen lässt. Bei dem Eintrocknen des Harzes entstehen stets Risse, die man dadurch leicht wegbringt, dass man die Präparate kurze Zeit mit Alkohol überpinselt und dann mit verdünntem Kanadabalsam überstreicht.

Zum Haltbarmachen der Präparate benutzt HERFF das Einlegen der Schnitte in LUGOL'sche Lösung, in der das Silbersalz in Jodsilber verwandelt wird.

Als ungewöhnlich lange Einwirkungsdauer der Härtungsflüssigkeit sei erwähnt die Methode von WINTERHALTER, der, um sympathische Ganglienzellen im Ovarium zu färben, folgende Modifikation benutzte: Menschliche Ovarien kamen für 6—8 Wochen in das mehrfach gewechselte Kalium bichromicum-Osmiumgemisch und 2—4 Tage in die wiederholt gewechselte Silberlösung. Es werden ziemlich grosse Stücke verwendet.

4. Verschiedenes.

Für die Sekretkapillaren der Belegzellen hat KUTMANOW die SMIRNOWsche Methode (5,0) als besonders geeignet gefunden. KOPSCH konnte sie ebenso wie die Gallenkapillaren sehr gut mit der Formolanwendung erhalten. Ueber die Methode von DOGIEL, die beim Studium der Drüsen werthvoll ist, cf. pag. 481.

Zum Studium der Muskelfasern ist nach den Angaben von FUSARI die GOLGI'sche Methode der Goldmethode weit überlegen. Sowohl die aus Körnchen zusammengesetzten Longitudinalfasern wie die queren Verbindungsfasern werden viel deutlicher mit ihr sichtbar.

TIRILLI fand die GOLGI'sche Methode auch für das Studium des Knochengewebes geeignet. Es ist vortheilhafter, sich dabei platter Knochen, z. B. der Schädelknochen eines fast reifen Kaninchenembryos, zu bedienen. Es erscheinen dann die Knochenkörperchen auf einem hellgelb gefärbten Untergrunde mehr oder weniger stark braun gefärbt, und zwar ist die Färbung im Centrum der Elemente weniger stark als in der Peripherie und in den Ausläufern.

Es färben sich dabei nicht alle Elemente, sondern nur zerstreute Gruppen von 5—30 solcher.

Um die Endigung der Tracheen und der Nerven in den Flügelmuskeln der Insekten darzustellen, legt Cajal 3—4 Mm. lange Stücke 12 bis 24 Stunden in die Fixirungsflüssigkeit; dann für 24 Stunden in die Silberlösung. In 40%igem Alkohol werden die Stücke zerlegt, in Nelkenöl aufgehellt und nach Behandlung mit Terpentin in Balsam auf gewöhnliche Weise eingeschlossen. Auch kann man die Präparate oberflächlich in Paraffin einbetten und schneiden. Sind die Muskelfasern sehr leicht zu isoliren, dann findet man die Niederschläge nur in den Tracheen und den nervösen Elementen. In den nicht isolirbaren Muskeln sind die Querstreifen ausser den Tracheen oft gefärbt. Die Tracheen färben sich sehr leicht, so dass man dort kaum Misserfolge hat, schwieriger imprägniren sich die nervösen Elemente.

Die elektrischen Organe von Raja und Torpedo sind ebenfalls dankbare Objekte der Färbung. Ballowitz isolirte cirka 1 Cm. lange Stückchen des elektrischen Gewebes mit einem scharfen Messer und legte sie in die Osmiumbichromatmischung, zum Theil mit doppeltem Osmiumsäurezusatz. Nach 3—4 Tagen kamen die Stücke in die Silberlösung und zeigten dann die Zwischensubstanz in den elektrischen Elementen, die elektrischen Stäbchen und das Nervenendnetz gefärbt.

IV. Anhang. Methoden, die auf ähnlichen Principien beruhen wie die Golgi'sche.

1. Böhm und Oppel haben uns mit einer Methode bekannt gemacht, die speciell zur Darstellung der sogenannten Gitterfasern (Kupffer) der Leber, Milz und Lymphknoten dient. Sie schliesst sich unmittelbar an die Golgi'sche an. In Alkohol gehärtete Stücke dieser Organe kommen auf 24 Stunden in eine 1/2%ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum; dann spült man sie in einer sehr dünnen Lösung von Argentum nitricum (einige Tropfen einer 0,75%igen Lösung auf 30 Ccm. Aq. dest.) ab und bringt sie in eine 0,75%ige Lösung von Argentum nitricum. Nach ungefähr 24 Stunden ist die Reaktion beendet. Paraffineinbettung ist ausführbar.

Für grössere Stücke kann man mit Vortheil stärkere Lösungen des Chromsalzes (bis 4%) anwenden. Auch 3%ige Lösung von Kaliumbichromat und 1/2%ige Chromsäure giebt ähnliche Resultate.

2. Auch auf einem Silberniederschlag beruht die von Tartueri angegebene Methode, die Hornhautzellen mit ihren Ausläufern zu färben: Man lege die Hornhaut eines erwachsenen Thieres ungefähr für 3 Tage oder auch noch länger in eine Lösung von unterschwefligsaurem Natron (15 Grm. auf 100 Ccm. Aq. dest.) bei einer mittleren Temperatur von 26°, übertrage sie dann in ein Gefäss, welches sehr fein pulverisirtes Chlorsilber in etwas Wasser enthält, und lasse sie hierin 2 Tage oder länger.

Lässt man die Hornhaut eines erwachsenen Thieres in der Lösung von unterschwefligsaurem Natron länger liegen als oben angegeben, oder legt man die eines sehr jungen Thieres während zweier Tage ein und behandelt dann mit Chlorsilber, so werden die Hornhautzellen nicht oder nur unvollkommen gefärbt, während jetzt im Gegensatz dazu unzählige elastische Fasern in der ganzen Dicke deutlich hervortreten. Die Präparate erhalten sich lange völlig unverändert. Etwas modificirt wurde dann im Jahre 1893 die Methode folgendermassen angegeben: Die ganz frischen Objekte werden je nach ihrer Grösse und histologischen Beschaffenheit auf 7 oder mehr Tage in eine 10-, 15- oder 30%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron gethan und kommen dann auf 1—3 Tage in destillirtes Wasser, das das

Objekt aber nur eben bedecken darf und Chlorsilber suspendirt enthält. Sie werden während dieser Zeit in einem Ofen auf 26—36° erwärmt. Nach Eintritt der Reaktion werden sie (eventuell bis 2 Tage lang) mit destillirtem Wasser ausgewaschen und in Alkohol gehärtet. Ein anderes Verfahren besteht darin, dass die Objekte auf 1—8 Tage oder länger in eine 1—2%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natron gelegt werden und darauf bei der oben angegebenen Temperatur mit einer 1%igen Lösung desselben Salzes, dem Chlorsilber im Ueberschuss zugefügt wird, behandelt werden.

3. MARTINOTTI hat, um elastische Fasern zu färben, folgende Vorschriften gegeben: Frische Stücke von 2—3 Ccm. kommen in eine 2%ige Lösung von Acidum arsenicosum für cirka 24 Stunden. Wenn man Organe mit anhaftendem Knochen behandeln will, empfiehlt es sich, eine koncentrirtere Lösung zu nehmen, da dann der Knochen zugleich entkalkt wird. Darauf lässt man die Stücke 5—15 Minuten in MÜLLER'scher Flüssigkeit und legt sie in Silberlösung von folgender Zusammensetzung: 2 Grm. Argent. nitr. löst man in 3 Ccm. destillirten Wassers; dazu fügt man 15—20 Ccm. Glycerin (très pure à 30°). Die hineingelegten Stückchen schwimmen zunächst auf der Lösung, binnen 24 Stunden sind sie aber untergesunken und dann ist die Reaktion beendet. Man kann die Präparate auch noch länger darin lassen. Dann wäscht man sie schnell in destillirtem Wasser und härtet sie in Alkohol, den man öfters wechselt. Sie halten sich im Alkohol sehr gut. Nachdem die Schnitte in 0,75% $NaCl$ eingetaucht sind, kann man sie in Balsam einschliessen. Vor allzu intensivem Licht sind sie zu schützen.

4. Schliesslich sei noch der sehr schöne Resultate gebenden Methode von KRONTHAL gedacht, der andere Reagentien ausprobirt hat, um sicherere Resultate zu erhalten.

Zunächst wird ameisensaures Blei dargestellt, indem man in eine wässerige Lösung von essigsaurem Blei langsam Ameisensäure eintropft. Es bilden sich feine weisse Krystallnadeln, die unter allmählichem weiteren Zutropfen von Ameisensäure schliesslich das ganze Gefäss erfüllen. Das ameisensaure Blei ist in Wasser viel schwerer löslich als das essigsaure Blei, weshalb auch bei der Reaktion Essigsäure frei wird. Von dem ameisensauren Blei wird die Flüssigkeit abfiltrirt und der Rückstand in Wasser zu einer gesättigten wässerigen Lösung von ameisensaurem Blei gelöst. In ein Gemisch von gleichen Theilen dieser Lösung und 10%iger Formollösung bringt man die frischen Stückchen von Gehirn und Rückenmark für 5 Tage und überführt sie dann, ohne auszuwaschen, direkt in ein Gemisch von gleichen Theilen 10%iger Formollösung und Schwefelwasserstoffwasser. Diese Mischung riecht nur ganz schwach nach Schwefel. Man giesst von diesem Gemisch, um es nicht durch das Einwerfen der Präparate stark zu färben, vorher etwas auf die Stückchen, verfährt also ganz ähnlich wie beim Einlegen der Golgipräparate in die Silbermischung. In dem Schwefelwasserstoffformolgemisch bleiben die Präparate, die sich bald dunkel färben, 5 Tage, dann kommen sie in allmählich verstärkten Alkohol und werden in Celloidin eingebettet; die Schnitte werden in Karbolxylol aufgehellt und in Xylolkanadabalsam unter dem Deckglas aufgehoben. Sie sind, so weit die Erfahrungen reichen, unbegrenzt haltbar. Wenn das Schwefelwasserstoffwasser freien Schwefel enthält, verfärben sie sich etwas und es treten auch Niederschläge in den Präparaten auf.

Die Ganglienzellen und Nervenfasern sind von feinsten Körnchen angefüllt, die in den Gewebebestandtheilen so dicht stehen, dass sie meist nicht mehr als Einzelkörperchen wirken. Die Vollständigkeit der Färbung ist so gross wie nicht annähernd in den Golgipräparaten. Darin liegt aber, wie mir scheint, leider zugleich ein gewisser Nachtheil der Methode, die freilich überraschende Bilder giebt, denn es ist so nicht leicht möglich.

Elemente in dicken Schnitten auf weite Entfernungen hin zu verfolgen. Für die Pathologie hat die Methode insofern Bedeutung, als sich schon makroskopisch Unterschiede bemerkbar machen: wo es sich um eine Degeneration des Nervengewebes ohne Wucherung handelt, heben sich die entarteten Stellen hell gegen das Gesunde ab, wo es aber zu Proliferation von Gewebe gekommen ist, erscheint das Erkrankte dunkel gegen das Gesunde.

Auch bei ganzen Gehirnen erreicht man Färbungen der Rinde. Ein solches Gehirn lag 14 Tage in einer Mischung von 2,5 Liter 10%iger Formollösung und 2,5 Liter einer kalt gesättigten wässerigen Lösung von ameisensaurem Blei. Dann kam es ohne Abwaschung in eine Mischung von 2,5 Liter 10%iger Formollösung und 2,5 Liter Schwefelwasserstoffwasser, worin es wieder 14 Tage verblieb. Die weitere Konservirung geschah in einer Mischung von gleichen Theilen 90%igen Alkohols und reinen Glycerins, das zur Hälfte mit Wasser verdünnt war. Sämmtliche Zellen der Rinde sind tadellos gefärbt, so dass man auf diese Weise das ganze Gehirn systematisch durchforschen kann. Die Färbung der Rindensubstanz ist, wie man auf einem Durchschnitt durch das Gehirn sieht, nur in der Tiefe der Windungen und an den Stellen ausgeblieben, auf denen das Gehirn gelegen hat. Die Windungstiefen dürften aber auch leicht zu tingiren sein, man braucht sie nur durch eingelegte Wattebäuschchen etwas klaffen zu lassen und so den Reagentien besser zugänglich zu machen; um die Lagerungspunkte zu färben, muss man das Organ weich betten. Das gesammte Innere des Organs erschien weiss; doch würde es nach KRONTHAL's Annahme auch gelingen, das Innere zu färben, wenn man vorher die betreffenden Mischungen einspritzt. Wenn man Durchschnitte eines frischen Gehirnes in die Flüssigkeit legt, so erhält man natürlich auch Färbung der grauen Substanz im Inneren. Diese dringt einige Millimeter tief ein, und wenn man vorsichtig die äusserste schwarze Schicht fortschneidet, kommt man auf Ebenen, in denen die graue Substanz sich schwarz gegen die grau gefärbte weisse abhebt. So dürfte die Methode auch für die makroskopische Demonstration verwendbar sein.

Litteratur*: ANDRIEZEN (Brain, 1894), ATHIAS (Bibl. anat., Bd. 5, 1894), derselbe (Journ. de l'Anat. Physiol., Bd. 33, 1897), AZOULAY (C. R. soc. biol., Ser. X, Bd. 1, 1894), derselbe (Bull. soc. anat. Paris, Jahrg. 69, Ser. 5, Bd. 8, 1894). BALLOWITZ (Zeitsch. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), BEHRENS, KOSSEL, SCHIEFFERDECKER (Das Mikroskop), BELMONDO (Sulla teoria della colorazione nera del GOLGI, Reggio Emilia Stefano Calderini, 1889), BERKLEY (Anat. Anz., Bd. 8, 1893), BOLTON (Lancet. 1898), RAMON Y CAJAL (Rev. trimetr. histol. pathol., Jahrg. 1, 1888), derselbe (Intern. Monat. Anat. Physiol., Bd. 6, 1889), derselbe (Nnevas aplicaciones del método de coloración de GOLGI, Barcelona 1889), derselbe (Anat. Anz., Bd. 4, 1889), derselbe (Anat. Anz., Bd. 5, 1890), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), derselbe (Cellule, Bd. 7, 1891), derselbe (Trabagos del Laboratorio histologico de la Facultad de Medicina de Barcelona, 1891), derselbe (Estructura del asta de Ammon y fascia dentata, Madrid 1893), derselbe (Cellule, Bd. 9), CENI (Riforma med., Jahrg. 10, 1893, und Centr. allgem. Pathol., Bd. 5, 1894), CIPOLLINA (Boll. R. Acc. med. Genova, Jahrg. 2, 1896), CORNING (Anat. Anz., Bd. 17, 1899), COX (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), DOGIEL (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), DONAGGIO (Riv. sper. fren. e med. leg. Reggio Emilia, Bd. 22, 1896), DURIG (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), EBERTH u. BUNGE (Anat. Hefte, Bd. 2, 1892), FEDERICI (Boll. R. Acc. Med. Roma, 1900), FICK (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), FLATAU (Arch. mikr. Anat., Bd. 45, 1895), FLECHSIG (Arch. Physiol., 1889 u. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), FRIEDLÄNDER (Zeit. wiss. Zool., Bd. 58, 1894), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), R. FUSARI (Atti Ac. Sc. Med. Nat. Ferrara, Jahrg. 67, 1894), derselbe (ebenda, Bd. 67, 1894), derselbe (ebenda), R. FUSARI e A. PANASCI (Atti R. Acc. Torino, Bd. 25, 1890), VAN GEHUCHTEN (Cellule, Bd. 6, 1890), derselbe (ebenda, Bd. 8, 1893), GEROTA (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 13, 1896), GOLGI (Arch. per le Sc. med., Bd. 3, 1879), derselbe (ebenda, Bd. 4, 1880), derselbe (ebenda, Bd. 8, 1884), derselbe (Sulla fina anatomia deglia organi del sistema nervoso Milano Hoepli,

* Dieses Verzeichniss kann keinen Anspruch auf absolute Vollständigkeit machen, weil sehr häufig technische Vorschriften in Arbeiten sind, die es zuerst nicht vermuthen lassen und es unmöglich war, sämmtliche Arbeiten, die in Betracht kommen könnten, zu erhalten. Leider waren mir auch einige wenige der hier angeführten Arbeiten unzugänglich.

1886), derselbe (Riforma med., Jahrg. 7, 1891, Bd. 2), derselbe (Rend. R. Ist. Lombardo Sc. Lett. Milano, Bd. 24, 1891), derselbe (Arch. ital. Biol., Bd. 19, 1893), derselbe (Untersuch. über den feineren Bau des centralen und peripherischen Nervensystems. Aus d. Ital. übersetzt v. R. Teuscher, Jena, G. Fischer, 1894), derselbe (Boll. Soc. med. chir. Pavia, Bd. 2 und Arch. ital. Biol., 1898), derselbe (Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., Bd. 31 und Gazz. med. lomb., Jahrg. 57, 1898), derselbe (Boll. Soc. med. chirurg. Pavia, Bd. 1 und Arch. ital. Biol., Bd. 30, 1898), derselbe (Arch. it. Biol., Bd. 31, 1899), derselbe (Cinquentenaire de la Soc. de Biol., Vol. jubil. Paris 1899), derselbe (Comm. fatta alla Soc. med. chir. di Pavia nella seduta del 20 gennaio, 1899), derselbe (Verh. anat. Ges. Pavia, 1900), Grassi und Castronovo (Bullet. Mens. Acc. Catania, 1890), dieselben (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889), Greppin L. (Corresp. schweiz. Aerzte, Jg. 18, 1888), derselbe (Arch. Psych. Bd. 20, 1889), derselbe (Arch. Anat., 1889, Suppl.), Gudden (Neurol. Centr., Jg. 20, 1901). Hanot und Levi (C. R. soc. biol., Ser. X, Bd. 2, 1895), v. Herff (Zeit. Geburt. Gynäk., Bd. 24, 1892), Hill (Brain, Bd. 83, 1896), Huber (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), Juschtschenko (Archiv. psichiatrii, 1896, russisch), Kallius (Anat. Hefte, Bd. 2, 1892), derselbe (Anat. Hefte, 1894, Heft 10), Kingley (Journ. appl. Microsc., Bd. 2, 1899), v. Kölliker (Zeit. wiss. Zool., Bd. 49 u. 51, 1890, 1891), Kopsch (Anat. Anz., Bd. 11, 1896), Krause (Sitz. Anat. Ges. München, 1891), Kronthal (Virch. Arch., Bd. 130, 1892), derselbe (Neurol. Centr., Bd. 18, 1899), Kutmanow (Intern. Mon. Anat. Phys., Bd. 13, 1896), Lachi (Anat. Anz., Bd 10, 1895), Lee u. Mayer (Grundzüge), v. Lenhossék (Der feinere Bau des Nervensystemes im Lichte neuester Forschungen. 2. Auflage, Berlin 1895), Loweland (Trans. Amer. Micr. Soc., Bd. 19, 1897), Marpmann (Centr. Bakt., Bd. 15, 1894), Martinotti (Atti Congresso med. Assoc. med. ital., Pavia, und Riforma med., 1887), derselbe (Arch. ital. Biol., Bd. 11, 1889), derselbe (Ann. di Freniatr., Bd. 1, 1889), Mondino (Arch. per le sc. med., Bd. 8), derselbe (Zeitsch. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), Monti (Ricerche innervaz. organi trofici Craniati infer., Torino 1898). Nabias (Recherches histolog. et organ. centres nerveux Gastéropodes, Bordeaux 1894), Nansen (Bergens Museums Aarsberetning. for 1886), Nichols (Journ. appl. Microsc., Bd. 3, 1900), Obersteiner (Anleitung z. Studium des Baues der nervösen Centralorgane im gesunden und kranken Zustande. Leipzig-Wien 1888), Obregia (Virch. Arch., Bd. 122, 1890), Oppel (Anat. Anz., Bd. 5, 1890), Pal (Wien. med. Jahrb., N. F. Jahrg. 1886), Pellizzi (Giorn. R. acc. med. Torino, Jahrg. 57, 1894), Pollack (Die Färbetechnik des Nervensystems, 2. Aufl., 1898, Berlin), Retzius (Biol. Unters., Bd. 3, 1892), derselbe (ebenda), Robertson und Macdonald (Journ. of Mental Sc., Bd. 47, 1901), Rossbach und Sehrwald (Centr. med. Wiss., Jg. 26, 1888), G. Sala (Anat. Anz., 1900, Bd. 18), L. Sala (Zeit. wiss. Zool., Bd. 52, 1891), derselbe (Communicaz. fatta all' Accad. d. Sc. Med. e Nat. di Ferrara, 28. Juni 1897), Samassa (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Sehrwald (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), derselbe (ebenda), derselbe (ebenda), Smidt (Neurol. Centr., 1899), Smirnow (Intern. Mon. Anat. Phys., Bd. 10, 1893), derselbe (ebenda), derselbe (Anat. Anz., Bd. 9, 1894), Stefanowska (Institut Solvay Trav. de Laborat., Bd. 2, 1898), Strong (Brit. Assoc. Advance Sc., Oxford 1894), derselbe (Proc. New York Acad. Sc., Biol. Sect., Bd. 15, 1895 u. Anat. Anz., Bd. 10, 1895), derselbe (Journ. of Neurol., Bd. 6, 1896), Tal (Gaz. Ospedali, 1886), Tartuferi (Anat. Anz., Bd. 5, 1890), derselbe (Boll. sc. med. Bologna, Ser. 5, Bd. 4 und Monit. Zool. Ital., Bd. 4, 1893), Timofejew (Ueber die Nervenendigungen in den männlichen Geschlechtsorganen der Säugethiere und des Menschen, Kasan 1896, Russisch), Tirelli (Atti R. Acc. Lincei Roma, Bd. 6, 1890), Vassale u. Donaggio (Riv. sper. Freniatria, Bd. 21, 1895), Waldeyer (Deutsch. med. Woch., 1891), Weigert (Ergebnisse Anat., Bd. 5, 1895), Weil u. Frank (Arch. of Neurol., Bd. 2, 1899), Winterhalter (Arch. Gynäk., Bd. 51, 1896), Wyrubow (Uebersicht Obosrenje über Psychiatrie, Neurologie u. experimentelle Psychologie v. Bechterew, Heft 12, pag. 903 bis 905, 1897 [russisch]), Zimmermann (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898).

Kallius, Göttingen.

Gonokokken. Die von Neisser[10]) im Jahre 1879 entdeckten Gonokokken, »kaffeebohnenähnliche« Diplokokken, deren Einzelkörper (von 1,25 μ Länge, 0,7 μ Breite) durch einen dünnen Spalt derart getrennt sind, dass die konkave Seite diesem Spalte zugewendet ist, färben sich leicht durch basische Anilinfarbstoffe (Methylviolett, Fuchsin, Gentianaviolett, Dahlia und Methylenblau). Für praktische Zwecke genügt die seit langen Jahren an der Breslauer dermatologischen Klinik stets angewandte Methode mit Löffler's Methylenblau[11]): Das Sekret wird auf dem Objektträger fein verstrichen, getrocknet und dreimal schnell über die Flamme gezogen. Darauf wird der Objektträger mit dem Farbstoff übergossen, nach einigen Sekunden mit Wasser abgespült, getrocknet und ohne Deckglas mit Oelimmersion besichtigt.

Lane[7]) empfiehlt für Deckglaspräparate folgende Methode: Das eine 1/2 Minute mit Acidi trichloracetici 5,0, Aq. dest. 20,0 behandelte, getrocknete

und wieder fixirte Präparat wird 2—5 Minuten mit folgender Lösung gefärbt: Kali caustici 5% 1—2 gtt., Aq. dest. 30,0. Zusatz von soviel alkoholischer gesättigter Methylenblaulösung, bis die Lösung dunkelblau erscheint.

HOMBERGER[5]) färbt die Gonokokken in einer wässerigen Lösung von Kresylechtviolett* (1:10.000). Bei dieser Färbung treten die dunkelvioletten Gonokokken sehr deutlich, und scharf gegenüber den schwach blau gefärbten Kernen hervor.

Eine weitere Reihe von Gonokokkenfärbungen beruht auf dem von v. SEHLEN[17]) angegebenen Princip, mit Hilfe eines Gemisches von Anilinfarben eine Doppelfärbung von Bakterien und Zellelementen zu erreichen: Von theils vor, theils nach v. SEHLEN angegebenen Methoden seien folgende erwähnt.

SCHÜTZ[21]) bringt das Präparat für 5—10 Minuten in eine kalt filtrirte gesättigte Lösung von Methylenblau in 5%igem Karbolwasser, spült nach Abwaschen in Aq. dest. einen Moment in Essigsäurewasser (5 gtt. Acid. acet. dil., 20,0 Aq. dest.) ab und färbt mit sehr dünner wässeriger Safraninlösung nach. Die Gonokokken werden blau, die Epithelien blassblau, die Eiterzellen, deren Kerne, sowie die Kerne der Epithelien »lachsfarben«.

Schönere Bilder als diese nicht recht zuverlässige Methode giebt KLEIN's bei FINGER[4]) citirte Färbung: Die mit Trippereiter bestrichenen Deckgläser werden zuerst (statt sie durch die Flamme zu ziehen) für 40 Minuten in eine Mischung von Alkohol und Aether aa. gebracht, 10—15 Minuten in Eosin-Methylenblau (0,5 Eosin gelöst in 100,0 koncentrirter wässeriger Methylenblaulösung) gefärbt, in Wasser abgespült, getrocknet und mit Kanadabalsam auf den Objektträger gebracht. Die Gonokokken und Zellkerne werden blau, das Protoplasma lachsfarben.

Von SCHÄFFER[19]) rührt folgende Methode her: Färbung des auf dem Objektträger gleichmässig dünn verstrichenen und fixirten Sekrets in Fuchsin 0,1, Alkohol 20,0, Karbolwasser 5% 200,0, 5—10 Sek. Abspülen in Wasser, Nachfärben in 10 Ccm. 1%igen Aethylendiamin** mit 2—3 gtt. 10%iger koncentrirter wässriger Methylenblaulösung, bis neben dem röthlichen Farbenton sich eine deutliche blaue Farbennuance bemerkbar macht (etwa 40 Sek.). Gonokokken schwarzblau, Protoplasma der Leukocyten zart hellroth, Kerne schwachblau, eventuell Spermatozoen sehr deutlich gefärbt: Kopf blau, Schwanzstück roth.

PICK und JACOBSOHN[13]): 1. Aufstreichen des Eiters auf dem Deckgläschen, resp. Objektträger, Trocknen; 2. dreimaliges Durchziehen durch die Flamme; 3. Färben höchstens 8—10 Sekunden in Aq. dest. 20,0 Karbolfuchsin gtt. 15, koncentr. alk. Methylenblaulösung gtt. 8; 4. Abspülen in Wasser; 5. Trocknen; 6. bei Deckglastrockenpräparaten eventuell Kanadabalsam. Die Lösung stets frisch zu bereiten.

LANZ[8]) empfiehlt folgende Farbflüssigkeit, die allerdings auch den Nachtheil geringer Haltbarkeit hat: 2%ige wässerige Karbolfuchsinlösung 1 Theil, gesättigte wässerige Thioninlösung 4 Theile, Färbung $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Minute.

Zu diesen Doppelfärbungen, resp. Färbungen mit Anilinfarbstoffgemischen ist hinzuzufügen, dass keine der genannten Methoden eine nur für Gonokokken specifische Färbung darstellt, wohl aber, dass die Gonokokken sich besonders scharf und deutlich von den übrigen Elementen des zur Untersuchung genommenen Sekrets (und eventuell einigen anderen Bakterienarten) abheben.

Sie haben also dort eine Berechtigung, wo es auf das Auffinden relativ spärlicher und eventuell von Kernen verdeckter Bakterien ankommt. Einen

* Dargestellt von LEONHARD in Mühlheim.
** Von SCHERING's Grüner Apotheke, Berlin.

Vorzug vor den anderen Methoden hat die von SCHÄFFER angegebene insofern, als sie, neben der Haltbarkeit der Lösung und der Schnelligkeit der Ausführung ein sicheres Resultat giebt, vorausgesetzt, dass die Vorschriften, vor allem das gleichmässig dünne Aufstreichen des Sekrets genau befolgt werden. Dazu kommt, dass diese Methode eine gute Färbung der Spermatozoen gestattet und auch in altem angetrockneten Eiter noch sehr lange gut gefärbte Gonokokken nachweisen lässt, was für gewisse gerichtsärztliche Fragen von Bedeutung ist.

Im allgemeinen genügt die (s. oben) beschriebene Färbung der Gonokokken auf dem Objektträger mit LÖFFLER's Methylenblau für praktische Zwecke und findet nur noch in der Anwendung des GRAM'schen Verfahrens eine gewisse Ergänzung. Der Gonokokkus wird nach GRAM entfärbt und diese Thatsache ist in vielen Fällen ein ausschlaggebendes diagnostisches Kennzeichen der Gonokokken gegenüber anderen ähnlichen Kokkenformen.

Nachdem ROUX [16]), ALLEN [1]) und WENDT [28]) auf die Entfärbuug des Gonokokkus nach GRAM hingewiesen, haben STEINSCHNEIDER und GALEWSKY [23]) festgestellt, dass von den 4 Diplokokkenarten, die neben dem Gonokokkus in der gonorrhoisch inficirten Urethra vorzukommen pflegen, nur zwei seltene Arten ebenfalls die GRAM'sche Färbung abgeben, so dass in 95% der Fälle die Anwendung der GRAM'schen Färbung sichere diagnostische Schlüsse zulässt.

STEINSCHNEIDER und GALEWSKY verfahren folgendermassen: Färbung in Anilinwassergentianaviolett 25—30 Minuten, Abspülen in Wasser, Jodjodkaliumlösung 5 Minuten, Alkohol abs. bis zur Entfärbung. Abspülen. Nachfärben in Bismarckbraun.

TOUTON [25]) empfiehlt zur Nachfärbung verdünnte Safraninlösung, STEINSCHNEIDER [22]) CZAPLEWSKI'sche [3]) Fuchsinlösung (Fuchsin 1,0 verrieben mit 5,0 Acid. carbol. liquef., dazu 50,0 Glycerin und 100,0 gekochtes destillirtes Wasser; diese Stammlösung mit der neunfachen Menge Wasser verdünnt).

VAN DEN BERG [2]) macht darauf aufmerksam, dass intracellulare Gonokokken die Färbung festhalten, wenn das Präparat nicht länger als 30 Sek. dem Alk. abs. ausgesetzt wird und die Farbstofflösung nicht zu dünn ist. Zur Entfärbung aller Gonokokken ist eine Einwirkung des Alkohols von wenigstens $2^1/_2$ Minuten nothwendig. Doch darf man die Entfärbung nicht über 4 Minuten ausdehnen, da sich dann auch die pyogenen Kokken entfärben. Besser als Alkohol absolutus entfärbt NICOLLE's Aceton-Alkohol (Alk. abs. + $^1/_3$—$^1/_6$ Acetons [12]).

WEINRICH [27]) betont die Sicherheit der GRAM'schen Färbung für den Nachweis der Gonokokken. Die Ausführung der GRAM'schen Färbung geschieht nach WEINRICH folgendermassen: Färbung 1—3 Minuten in EHRLICH's Anilingentianaviolett* oder FRAENKEL's Karbolgentianaviolett** (die den Vortheil langer Haltbarkeit hat), darauf kommen die Präparate, ohne sie mit Wasser abzuspülen, für 1—3 Minuten in LUGOL's Jodjodkalilösung: Jodi 1,0. Kal. jodat. 2,0, Aq. dest. 300,0, darauf, wieder ohne in Wasser abzuspülen, in Alkohol absolutus, bis der abtropfende Alkohol farblos ist, dann Abspülen in Wasser, Nachfärben in Bismarckbraun (Aq. dest. 70,0 erhitzt. Bismarckbraun 3,0, Alk. 96% 30,0 umzurühren und zu filtriren).

In neuerer Zeit ist auch das von EHRLICH angegebene Neutralroth zur Färbung der Gonokokken im frischen Präparate verwendet worden.

UHMA [26]) hat festgestellt, dass, wenn man einen Tropfen gonorrhoischen Urethralsekrets frisch mit Neutralroth zusammenbringt, ein Deckglas auflegt und mit Oelimmersion untersucht, nur eine Anzahl Gonokokken sich tief fuchsinroth färben, während im übrigen das Gesichtsfeld völlig farblos bleibt.

* Gesättigte Alkoholgentianaviolettlösung 10,0, Anilinwasser (5%) 90,0.
** Gesättigte Alkoholgentianaviolettlösung 10,0, Karbolwasser ($2^1/_2$%) 90,0.

Während UHMA an eine gewisse Specifität des Neutralroths für die Gonokokken glaubt, hat PLATO[14 15]) betont, dass eine Specifität des Farbstoffs für die Gonokokken nicht vorliegt, sondern dass das Neutralroth als vitale Leukocytenfärbung vorzugsweise solche Substanzen eiweissartiger Natur färbt, die durch Phagocyten in dieselben aufgenommen sind. PLATO ist der Ansicht, dass die Methode praktisch dort zur Verwendung kommen könnte, wo es sich um das Auffinden eventuell vereinzelter Gonokokken handle.

PLATO bringt das Neutralroth entweder in Substanz oder in physiologischer Kochsalzlösung zu dem Tropfen Urethralsekret.

Während die Untersuchung auf Gonokokken in Sekreten und Flocken nach den obigen Methoden eine keineswegs schwierige ist und durch die einfache Methylenblaufärbung, eventuell unter Zuziehung der GRAM'schen Färbung (nach WEINRICH's Vorschrift) fast stets ein Entscheid darüber zu treffen ist, ob Gonokokken vorhanden sind oder nicht, stösst die Untersuchung der Gonokokken in Gewebsschnitten auf gewisse Schwierigkeiten dadurch, dass es schwer ist, den Augenblick zu finden, in dem man die Schnitte aus dem Alkohol abs. entnehmen muss, damit die Gonokokken nicht mit entfärbt werden.

TOUTON[24]) empfiehlt folgende Methode: Färbung 10—15 Minuten in Karbolfuchsin (Fuchsin 1,0, Alkoh. abs. 10,0, $5\%_0$iges Karbolwasser 100,0), Entfärbung in Alkoh. abs. bis zur makroskopisch deutlichen Differenzirung der Gewebe, Bergamottöl, Kanadabalsam. Eiterzellenkerne und die meisten Gonokokken sehr dunkelroth, Epithelkerne ziemlich dunkel, Protoplasma rosa.

JADASSOHN[6]) empfiehlt 3—5 Minuten Färbung in Boraxmethylenblau nach SAHLI mit Entfärben in Wasser, dem wenige Tropfen Essigsäure zugesetzt sind, 1—2 Minuten lang, ferner die Färbung in dünner wässeriger Thioninlösung. Der Hauptwerth ist nach JADASSOHN auf die Beschleunigung der Entwässerung zu legen, dies kann man dadurch erreichen, dass man die Schnitte nach fast nur momentanem Aufenthalt in Alkohol absolutus in eine Mischung von Alkohol absolutus 1 Theil und 4 Theilen Xylol zur Aufhellung bringt.

MICHAELIS (bei LEYDEN)[9]) betont ebenfalls, dass die Schnitte nur kurze Zeit im Alkohol abs. verweilen dürfen. Er färbt 1—2 Stunden in koncentr. wässriger Methylenblaulösung oder in LÖFFLER'scher Methylenblaulösung, wäscht in Aq. dest. die Schnitte aus, bis nur die Kerne und Kokken gefärbt sind und färbt in einer ganz dünnen Eosinlösung nach, bis eine schwache Rosafärbung sichtbar ist.

Neben dem mikroskopischen Nachweise der Gonokokken in Sekreten und Flocken nimmt der kulturelle Nachweis der Gonokokken für praktische Zwecke, d. h. zur Diagnose einer Gonorrhoe, deren mikroskopische Feststellung auf Schwierigkeiten stösst, zur Zeit eine nur bescheidene Rolle ein: An der Breslauer dermatologischen Klinik werden seit Jahren Mischungen theils von menschlichem Blutserum, theils von Ascites-, theils von Pericarditis- und Hydrocelenflüssigkeit mit Agar im Verhältniss 1—3 gebraucht und diese Nährböden gaben uns stets gute Resultate. Es ist darauf Werth zu legen, dass die angelegten Kulturen sofort in den Thermostaten von 36,5° C. kommen (SCHOLTZ[20]).

Litteratur: [1]) ALLEN (Journ. of cut. diseases, 1887), [2]) VAN DEN BERGH (Centr. f. Bakt., 1896, Bd. 20), [3]) CZAPLEWSKI (Hyg. Rund., 1896), [4]) FINGER (Die Blennorrhoe der Sexualorgane, 5. Aufl., 1901), [5]) HOMBERGER (Centr. f. Bakt., 1900, Bd. 27), [6]) JADASSOHN (Verh. Congr. deutsch. derm. Ges., 1894), [7]) LANZ (Deutsch. med. Woch., 1894), [8]) derselbe (ebenda, 1898), [9]) LEYDEN (Deutsch. med. Woch., 1893), [10]) NEISSER (Centr. med. Wiss., 1879), [11]) NEISSER u. SCHÄFFER (Ergebnisse allg. Path., 1896), [12]) NICOLLE (Ann. de l'Inst. PASTEUR, Bd. 9, 1895), [13]) PICK u. JACOBSOHN (Berl. klin. Woch., 1896), [14]) PLATO (Berl. klin. Woch., 1899), [15]) derselbe (Allg. med. Centr., 1900), [16]) ROUX (Arch. gén. de méd., 1886, Bd. 2), [17]) v. SEHLEN (Verh. Congr. deutsch. dermat. Ges., 1894), [18]) SCHÄFFER (Ergebnisse allg. Path., 1896), [19]) derselbe (Verh. Congr. deutsch. dermat. Ges., 1895), [20]) SCHOLTZ (Arch. Dermat. Syph., 1894, Bd. 49),

[21]) Schütz (Münch. med. Woch., 1889), [22]) Steinschneider (Aerztl. Sachverst. Zeit., 1898). [23]) derselbe (Verh. Congr. deutsch. dermat. Ges., 1889), [24]) Touton (Arch. Dermat. Syph., 1889), [25]) derselbe (Berl. klin. Woch., 1894), [26]) Unma (Arch. Derm. Syph., 1899, Bd. 50), [27]) Weinrich (Centr. Bakt, 1898), [28]) Wendt (Ref. Derm. Monatsh., 1888).

F. Juliusberg, Baden-Baden.

Gram'sche Färbung. Im Jahre 1884 hat Chr. Gram eine Färbemethode angegeben, welche eine isolirte Färbung der meisten Bakterienarten in Schnitten gestattet. Dieselbe ist dadurch zu einer Universalmethode in der Bakteriologie geworden und hat auch für andere Zweige der Mikrotechnik eine hohe Bedeutung erlangt. Das Princip der Gram'schen Färbung besteht darin, dass die mit einem Anilinfarbstoff überfärbten Präparate für kurze Zeit in Jodjodkalium (Jod 1 Grm., Kalium jodat. 2 Grm., Wasser 300 Grm.) gebracht und dann mit Alkohol differenzirt werden. Durch die Behandlung mit Jod wird eine grosse Anzahl Bakterien und auch manche Gewebe so beeinflusst, dass sie den Farbstoff ungemein festhalten, während die anderen Gewebsbestandtheile ihn unter dem Einflusse des Alkohols rasch abgebeu.

Als Farblösung benutzte Gram das Ehrlich'sche Anilinwassergentianaviolett (100 Ccm. Anilinwasser versetzt mit 11 Ccm. koncentrirter alkoholischer Gentianaviolettlösung). Man kann statt dessen auch Methylviolett oder Viktoriablau verwenden. Färbuug mehrere Minuten, dann Uebertragen für die gleiche Zeit in Jodjodkalium. Die braunschwarz gefärbten Schnitte werden dann in 95%igem Alkohol so lange differenzirt, bis kein Farbstoff mehr abgeht, und durch Nelkenöl oder Xylol in Balsam gebracht.

Günther hat dann die Methode unerheblich modificirt, indem er die Differenzirung in Alkohol nach $^1/_2$ Minute unterbricht und in 3%igen Salzsäurealkohol überträgt für 10 Sekunden, um dann in reinem Alkohol die Differenzirung zu beenden.

Um den Kernen eiue Kontrastfärbung zu geben, kann man entweder mit Pikrokarmin vor- oder mit Bismarckbraun nachfärben.

Es hat sich gezeigt, dass nicht allen Bakterien die Eigenschaft zukommt, durch die Behandlung mit Jod den Farbstoff festzuhalten, sondern dass eine ganze Anzahl derselben nicht »jodfest« sind, also den Farbstoff im Alkohol ebenso wie die Gewebselemente abgeben. Zu diesen Bakterien gehören: Cholerabacillus, Typhusbacillus, Rotzbacillus, Rauschbrandbacillus, Gonokokkus, Pneumoniebacillus, Bacillus des malignen Oedems u. a. m.

Auch in der histologischen Technik hat die Gram'sche Färbung eiue grosse Verbreitung erlangt, besonders in der Modifikation von Bizozzero (siehe Gentianaviolett). Am leichtesten giebt bei der Gram'schen Entfärbung das Protoplasma den Farbstoff ab, dann folgt das Chromatin der Kerne und am längsten halten die Nukleolen den Farbstoff fest. Länger als das Chromatin der ruheuden Kerne halten die Chromosomen der sich theilenden Kerne die Farbe. Von anderen Gewebsbestandtheilen sind besonders die Mastzellenkörner und das Stratum corneum der Epidermis jodfest.

Litteratur: Gram (Fort. Med, 1884), Günther (Deutsche med. Woch., 1887), Unna (Dermat. Studien. Hamburg 1887).

Grandy'sche Körperchen siehe Herbst'sche Körperchen.

Granula siehe Altmann'sche Methoden, siehe auch Färbung, intravitale.

Gregarinen siehe Protozoen, siehe auch Parasiten, thierische.

Grünlichblau, Syn. für Anilinblau, spirituslöslich.

Grünpulver, veraltete Bezeichnung für Methylgrün.

Guajacaharzreaktion siehe Enzyme.

Guanin siehe Alkaloide.

Gummi, pflanzliche siehe Schleime, pflanzliche.

Gummi arabicum, das aus den Stämmen und Zweigen ausgeflossene, an der Luft gehärtete Gummi von Acacia Senegae und einigen anderen Acaciaarten. Die weisslichen oder gelblichen Stücke sind in der doppelten Menge Wasser leicht löslich, in Alkohol und Aether unlöslich.

Gummi arabicum hat in der mikroskopischen Technik zunächst als Einbettungsmasse Verwendung gefunden, so von KLEBS, HEIDENHAIN (vergl. BLOCHMANN), STRICKER. SERVEL bettet in einem Gummiglyceringemisch (3 : 1) ein; ebenso benutzen R. HERTWIG und JOLIET eine Gummiglycerinlösung, JOLIET nimmt auf ein Uhrschälchen mit Gummilösung 6—10 Tropfen reinen Glycerins. HOYER untersucht in einem Syrup, der Gummi und Kalium aceticum oder Gummi und Chloralhydrat mit einem Glycerinzusatz enthält. Aehnlich benutzt FARIS eine Mischung von 60 Gummi arabicum, je 45 Glycerin und Wasser, 1 Thymol. Als Einschluss- und Untersuchungsmedium empfiehlt APÁTHY für Methylenblaupräparate einen Gummisyrup folgender Zusammensetzung: es werden je 50 Grm. Gummi arabicum, nicht kandirten Rohrzuckers, destillirten Wassers auf dem Wasserbade mit einem Zusatz von 5 Cgrm. von Thymol zubereitet. BELAIJIFF untersuchte mikroskopisch kleine Pflanzen, z. B. Algen, zur Konservirung des grünen Chlorophylstoffes in verdünnten Gummilösungen.

Zur Untersuchung der Hornfasern von Hircinia bettet SUKATSCHOFF in Gummiglycerin ein, der aus einem Theil Glycerin und 10 Theilen einer dicken Lösung von Gummi arabicum besteht, an der Luft eintrocknet und dann mit dem Rasirmesser geschnitten werden kann. Aehnlich verfahren die Botaniker, so SCHACHT bei der Untersuchung von grossen Pollenkörnern, z. B. von Malva crispa. Es wird in Alkohol gehärtetes Material in einen Tropfen einer dicken Gummilösung gebracht und mit dem Rasirmesser geschnitten. Analog geht FLÖGEL bei der Untersuchung von Diatomeen zum Studium der Zellwandungen vor.

Ferner findet Gummi arabicum bei der Gefriermethode Verwendung. HAMILTON durchtränkt die Gewebe mit Zuckersaft und bringt sie dann in dicken Gummisaft und in diesem zum Gefrieren. COLE verwendet direkt ein Gemisch von Gummischleim und Zuckersaft, JACOBS ein Gemisch von Gummi und Traganth.

Bei der Injektionstechnik benutzt BJELUSSOW eine syrupöse Mischung von 1 Theil in Wasser gelösten Borax, 2 Theile Gummi arabicum; die Mischung wird mit Wasser versetzt und durch Leinwand gedrückt. Zum Aufkleben von Paraffinschnitten auf den Objektträger verwendet FLÖGEL eine Gummilösung (1 : 20); FRENZEL setzt dazu noch von einer wässerigen Chromalaunlösung, Glycerin und Alkohol hinzu. STRASSER stellt gummirtes Papier zum Aufkleben von Paraffinschnitten her (Gummi 50, Glycerin 20, Wasser 100). Endlich wird eine Gummilösung zum Aufkleben von Etiketten auf die Objektträger nach folgendem Recept empfohlen: Man löst 100 Grm. Gummi arabicum in 250 Ccm. Wasser, fügt dann eine Lösung von 2 Grm. krystallisirten Aluminiumsulfates in 20 Ccm. Wasser hinzu (Journ. of the Chemical Society, citirt nach LEE-HENNEGUY, Traité des Méthodes techniques, pag. 474).

Litteratur: APÁTHY (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), BELAIJIFF (Scripta Botanica Horti Petropolitan., Bd. 3, 1892), BJELUSSOW (Arch. Anat., 1885), BLOCHMANN (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), COLE (Journ. Roy. Microsc. Soc., Bd. 4, 1884), FARIS (Microscope, Bd. 10, 1890), FLÖGEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1870 und Zool. Anz., Bd. 6, 1883), FRENZEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 25, 1885), HAMILTON (Journ. of Anat. Phys., Bd. 12, 1878), R. HERTWIG (Jena Zeit. Naturw., Bd. 14, 1880), HOYER (Biol. Centr., Bd. 2, 1882), JACOBS (Americ. Nat., Bd. 19, 1885), JOLIET (Arch. Zool. expér., Bd. 10, 1882), SCHACHT (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 2), SERVEL (Arch. de Physiol., Bd. 2, 1874), STRASSER (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), SUKATSCHOFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900).

Mosse, Berlin.

Gummiglycerin siehe Glycerin.

Guttapercha bildet den eingetrockneten Milchsaft einer in Hinterindien heimischen Sapotacee: Isonondra Gutta. In rohem Zustand bildet sie eine röthliche, in gereinigtem eine gelbbraune, zähe, amorphe Masse, die bei 50° weich, bei 100° klebrig wird und bei 150° schmilzt. Sie ist unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und Alkalien. An Alkohol und Aether giebt sie 22% löslicher Stoffe ab und schwillt in Aether und ätherischen Oelen zu einem zähen Teig an. Leicht löslich ist sie in Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzin und Terpentinöl. Sie besteht im wesentlichen aus einem Kohlenwasserstoff, der Gutta und Oxydationsprodukten derselben. Eine Lösung von Guttapercha in Chloroform (1 : 10) ist unter dem Namen Traumaticin officinell.

Die Guttapercha hat als Klebemittel und als Zusatz für manche Injektionsmassen in der Mikrotechnik eine sehr beschränkte Anwendung gefunden.

Gymnospermen siehe Coniferen und Centrosomen, pflanzliche.

Gyps, Calciumsulfat, $Ca\,SO_4 + 2\,H_2\,O$, findet sich in grossen Mengen in der Natur als Anhydrid, Alabaster, Gypsstein, Marienglas etc. als weiches, weisses Mineral, das sich bei 12° zu 0,273%, bei 100° nur zu 0,217% in Wasser löst, das Maximum der Löslichkeit liegt bei 35°. In Alkohol ist der Gyps unlöslich, in Glycerin lösen sich 0,957%. Wird pulverisirter Gyps auf 150° erhitzt, so verliert er sein Krystallwasser, gebrannter Gyps. Der Fähigkeit des letzteren, beim Zusammenbringen mit Wasser dasselbe wieder aufzunehmen und zu einer harten Masse zu erstarren, verdankt der Gyps seine Anwendung in der Technik.

In der eigentlichen Mikrotechnik findet der Gyps kaum Verwendung, dagegen dient er zur Herstellung von Injektionsmassen für makroskopisch anatomische Präparate, zum Eingypsen von Knochen für Korrosionsinjektionen etc.

Gypskrystalle siehe auch Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

H.

Haare siehe Haut.

Hadromal siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Hämacalcium siehe Hämateïn.

Hämalaun siehe Hämateïn.

Hämatoxylin ($C_{16}H_{14}O_6$; genauere Konstitution noch unbekannt), der färbende Stoff im Blauholz (s. dieses). Man gewinnt es aus dem Holz durch Ausziehen mit wasserhaltigem Aether, Abdestilliren des letzteren, Mischen des Rückstandes mit Wasser und Umkrystallisiren (am besten unter Zusatz von Ammoniumbisulfit, um die Oxydation zu verhindern) aus Wasser. Es bildet farblose, meist aber durch Oxydation aussen etwas braune Krystalle mit 1 oder 3 Molekülen Krystallwasser, die süss schmecken und sich in Wasser, Glycerin und Alkohol ziemlich leicht lösen. (Die Lösungen oxydiren sich, besonders bei Gegenwart eines Alkalis, schon an der Luft und gehen dabei in das Hämateïn oder noch höhere Oxydationsstufen über.) Es ist nicht flüchtig, verhält sich wie eine schwache Säure und bildet Salze, die begierig Sauerstoff aufnehmen und zu Hämateaten werden. Zum Färben taugt es allein nur ganz selten (Genaueres hierüber s. unten), vielmehr muss stets eine Basis entweder 1. im Objekt bereits vorhanden sein oder 2. eigens vorher (durch eine Beize) oder auch nachher hineingebracht oder 3. dem Gewebe zugleich mit dem Hämatoxylin dargeboten werden.

Als Basen kommen hierbei für die Mikrotechnik hauptsächlich in Betracht Aluminium, Chrom, Eisen, Kupfer, weniger Molybdän, Vanadium und einige andere Stoffe. Die Salze aber, die hierbei entstehen, die sogenannten Farblacke, enthalten nie das Hämatoxylin selber, sondern wenigstens das Hämateïn oder noch höhere, nicht genau bekannte Oxydationsstufen.

Bei der Verwendung von Aluminium bietet man dieses in Form von Alaun oder Aluminiumchlorid etc. gewöhnlich zugleich mit dem Hämatoxylin (oder Hämateïn) den zu färbenden Geweben dar; hingegen bringt man, wenn es sich um Eisen, Kupfer, Chrom etc. als Basis handelt, in der Regel mit dem Objekt zuerst die Basis in Berührung, später erst die Lösung von Hämatoxylin (seltener Hämateïn), und hierbei entsteht dann aus der Verbindung der beiden Körper im Objekte ein Farbsalz (Lack), worin das Hämatoxylin wohl immer noch höher oxydirt ist als nur zu Hämateïn. Bei dieser Art von Färbung, die meist zu speciellen Zwecken dient, ist im

Namen gewöhnlich auch die Basis angegeben (z. B. Färbung mit Eisenhämatoxylin), während man unter Färbung mit Hämatoxylin schlechtweg fast immer eine solche mit Hämatoxylin (oder Hämateïn) und Aluminium versteht. Diese Redeweise ist aber ungenau; man sollte stets angeben, welche Art von Lösung man benutzt (z. B. Hämatoxylin nach Böhmer oder nach Ehrlich oder Hämalaun) oder wenigstens sagen: gefärbt mit Hämateïnthonerde.

A. Hämatoxylin allein wird zum Färben bisher nur von den Botanikern gebraucht, indem man auf dem Objektträger zu den Objekten etwas Hämatoxylin in Substanz bringt und Dämpfe von Ammoniak hinzutreten lässt: der Farbstoff löst sich unter Bildung von Hämateïnammoniak violett auf und färbt besonders die Zellkerne (dies scheint auf der Anwesenheit von Aluminium, Eisen oder Kupfer in den pflanzlichen Geweben zu beruhen). Thierische Gewebe hingegen färben sich mit Hämatoxylin (oder Hämateïn) allein nur sehr wenig, und speciell die Kerne darin wohl nie, falls sie nicht etwa aus den Fixirmitteln die dazu nöthigen Basen bereits aufgenommen haben. (Die freie Nukleïnsäure bindet nach P. Mayer das Hämateïn allein nicht, wohl aber aus Alaun die Thonerde und aus Hämalaun die Hämateïnthonerde.)

Als sehr empfindliches chemisches Reagens auf Eisen und Kupfer ist das Hämatoxylin neuerdings mehrfach empfohlen worden; nach P. Mayer lassen sich auch Spuren von Aluminium damit nachweisen, jedoch sehen sich die Niederschläge der drei genannten Metalle recht ähnlich, also reicht dieses Reagens zur Unterscheidung nicht aus.

B. Hämatoxylin mit Aluminium. Ein frisches Gemisch der wässerigen oder alkoholischen Lösungen von Hämatoxylin und Alaun oder Chloraluminium ist fast wasserhell und färbt auch die Objekte kaum. In der Regel dauert es Wochen oder sogar Monate, bis das Gemisch reif geworden ist, d. h. bis sich genug Hämatoxylin zu Hämateïn oxydirt und dieses sich mit dem Aluminium verbunden hat. Da sich nun nicht sofort alles Hämatoxylin oxydirt, so kennt man den Gehalt an wirksamem Farbstoffe nie auch nur einigermassen genau. Andererseits schreitet die Oxydation zwar langsam, aber unaufhörlich fort und verwandelt das Hämateïn in Körper, die nicht mehr färben: so sind denn die gewöhnlichen Hämatoxylingemische inkonstante Gemenge von unreifen, reifen und überreifen Bestandtheilen, daher auch in ihrer Wirkung häufig unberechenbar. Endlich aber ändert sich im Laufe der Zeit in den Gemischen, die Alaun enthalten, die Reaktion gegen Lackmuspapier: sie werden weniger sauer und färben dann auch manchmal anders als zu Beginn (z. B. den Schleim).

Wenn sich also auch die sogenannten Hämatoxyline nach P. Mayer viel rascher und sicherer mit fertigem Hämateïn (s. pag. 511) bereiten lassen, so kann man doch immer noch in einer für die Bedürfnisse der Praxis ziemlich ausreichenden Weise vom Hämatoxylin ausgehen, indem man dieses in alkoholischer Lösung vorräthig hält: entweder, wie schon Böhmer angegeben hat, etwa 1:10 in absol. Alkohol, oder nach Apáthy 1:100 in 70%igem Alkohol. Solche Lösungen enthalten bereits nach einigen Wochen ziemlich viel Hämateïn und können dann in entsprechender Proportion statt des festen Hämatoxylins oder Hämateïns verwandt werden.

Weitere allgemeine Angaben über die Färbung mit Hämatoxylin und Aluminium s. bei Hämateïn. Von den Gemischen, die hierher gehören, verdienen folgende eine genauere Erörterung.

1. Alaunhämatoxylin nach Böhmer (1865). Zu einem Uhrglase voll einer Alaunlösung (1:240 Wasser) setzt man einige Tropfen einer braun gewordenen Hämatoxylinlösung (1:12 absol. Alkohol). Nur noch von histori-

schem Interesse als das älteste Gemisch dieser Art. — Böhmer wäscht die Schnitte mit einer Lösung von Weinsteinsäure in Alkohol aus und schliesst sie in Ricinusöl oder Glycerin ein. Er hat auch schon beobachtet, dass die mit Chromgemischen oder Kupfervitriol behandelten Objekte sich mit Hämatoxylin allein (in Wasser gelöst) färben, allerdings weniger distinkt als bei Gegenwart von Alaun.

2. Alaunhämatoxylin nach Delafield (fälschlich nach Grenacher oder Prudden benannt). Zu 400 Ccm. einer gesättigten Lösung von Ammoniakalaun (1 Theil löst sich in etwa 11 Theilen Wasser) setzt man eine Lösung von 4 Grm. Hämatoxylin in 25 Ccm. starkem Alkohol und lässt das Gemisch in einer offenen Flasche 3—4 Tage stehen. Dann filtrirt man, giebt 100 Ccm. Glycerin und ebensoviel Methylalkohol hinzu, filtrirt wieder, lässt das Gemisch so lange (wenigstens 2 Monate) offen stehen, bis es dunkel genug geworden ist, und schliesst nun erst die Flasche. Es hält sich nicht lange unzersetzt und ist im ganzen wenig empfehlenswerth. Zum Färben verdünnt man es mit viel Wasser, lässt aber die Objekte, da es sehr stark färbt, nicht zu lange darin. — Bütschli empfiehlt als saures Hämatoxylin eine sehr starke Verdünnung des Delafield'schen Gemisches mit so viel Essigsäure, dass sie entschieden roth ist; sie färbt dann die Kerne schärfer. — Harris macht die lange Reifung des Hämatoxylins dadurch überflüssig, dass er es mit Quecksilberoxyd direkt in Hämateïn überführt (s. pag. 510).

3. Alaunhämatoxylin nach Ehrlich. Man löst 2 Grm. Hämatoxylin in 100 Ccm. absoluten Alkohols, setzt dazu 10 Ccm. Eisessig, je 100 Ccm. Glycerin und Wasser, endlich Alaun im Ueberschuss und lässt dies Gemisch in einer offenen Flasche dunkelroth werden. Es hält sich dann, gut verschlossen, Jahre lang unverändert. Schnitte färbt es sehr rasch, soll auch Stücke gut durchfärben und nicht überfärben. Von allen älteren Gemischen giebt dieses die schärfste Kernfärbung. — Mann nimmt statt des Hämatoxylins Hämateïn, aber (nach mündlicher Mittheilung an P. Mayer) nur den 4. Theil davon. — Ueber Apáthy's Hämateïnlösung s. pag. 513.

4. Alaunhämatoxylin nach Friedländer. Enthält, auf obige Mengen berechnet, nur 2 Grm. Alaun und gar keine Essigsäure, die man aber ad hoc hinzufügen darf. Dieses Gemisch ist weniger rationell als das vorige, da es viel zu viel freies Hämateïn enthält und sich auch schon bald zersetzt.

5. Alkoholisches Hämatoxylingemisch nach Kleinenberg. Es ist ein inkonstantes Gemisch von Hämatoxylin, das zum Theil in Hämateïn übergegangen ist, Chlorcalcium, Chloraluminium, Salzsäure und Alkohol (von 60—65%); seine Bereitung ist umständlich und nicht rationell. Es wird nur in den Fällen dienlich, wo aus irgend welchen Gründen ein wässeriges Färbgemisch vermieden werden soll, und lässt sich dann am besten durch Mayer's Hämacalcium (s. pag. 514) ersetzen.

6. Ueber die Doppelfärbungen, speciell die mit Eosin, sowie mit Pikrinsäure und Säurefuchsin s. pag. 515 bei Hämateïn.

C. Hämatoxylin mit Chrom. Bereits 1865 nebenher von Böhmer verwandt (s. oben pag. 506), absichtlich aber erst von R. Heidenhain, dann von Apáthy und besonders von Weigert. Alle diese Methoden beruhen darauf, dass das Hämatoxylin durch einen Theil der Chromverbindung (Chromsäure, Chromate etc.) zu Hämateïn und noch darüber hinaus oxydirt wird und nun mit dem übrigen Chrom ein Farbsalz bildet. Entweder wird

in die Objekte erst das Hämatoxylin und dann das Chromsalz eingeführt, oder umgekehrt.

1. Hämatoxylinchrom nach R. Heidenhain s. pag. 516.

2. Hämatoxylinchrom nach Apáthy. Diese Methode unterscheidet sich von der vorigen dadurch, dass nur Alkohol von 70—80% zur Verwendung kommt: die Objekte gelangen zuerst in eine 1%ige Lösung von Hämatoxylin und dann entweder halb so lang (wenn es Schnitte von 10 bis 15 μ sind) oder doppelt so lang (Schnitte von 25—40 μ) in eine 1%ige Lösung von Kaliumbichromat. Letztere Lösung macht man sich durch Vermischen einer 5%igen wässerigen Lösung mit dem Vierfachen von 80- bis 90%igem Alkohol, und zwar unmittelbar vor dem Gebrauch, schützt sie auch sammt den Objekten darin vor dem Licht und erneuert sie mehreremale. Ausgewaschen werden die Objekte ebenfalls im Dunkeln in 70%igem Alkohol. Die Färbung soll durchsichtiger ausfallen und die Objekte sollen mehr geschont werden als bei der Methode von Heidenhain. — Aehnlich verfährt Platner.

Celloidinschnitte behandelt Apáthy 10 Minuten mit der Hämatoxylinlösung, trocknet sie mit Fliesspapier ab und bringt sie im Dunkeln auf 5—10 Minuten in Alkohol von 70%, dem nur einige Tropfen der 5%igen Lösung von Kaliumbichromat zugesetzt worden sind. Die Schnitte werden stahlblau bis stahlgrau; ohne das Abtrocknen würde sich das Celloidin mitfärben.

3. Hämatoxylinchrom nach Henneguy. Nur für Schnitte. Diese werden auf 10 Minuten in eine ½%ige Lösung von Hämatoxylin in 90%igem Alkohol gebracht, dann mit Wasser ausgewaschen, 10 Minuten lang mit einer 2%igen wässerigen Lösung von Kaliumbichromat behandelt, wieder ausgewaschen und nun auf 5 Minuten in eine 1%ige wässerige Lösung von Kaliumhypermanganat gelegt. Eventuell Nachfärbung mit Safranin oder Fuchsin, Gentianaviolett etc.

4. Weigert's Methode zur Färbung der Markscheiden und ihre zahlreichen Abänderungen siehe bei Nervenfasern.

D. Hämatoxylin mit Eisen. In der Regel wird zuerst das Eisen in die Schnitte eingeführt, dann nach flüchtigem Abspülen das Hämatoxylin (oder Hämateïn), und zum Schluss wird die ganz diffuse und viel zu starke Färbung durch Auswaschen mit einer Säure oder mit der Lösung des Eisensalzes — die hier verwendeten Salze reagiren alle sauer — soweit abgeschwächt und distinkt gemacht, wie es das Ziel der Forschung verlangt. Die chemischen Vorgänge sind analog denen beim Chrom (s. oben) und gleich diesen nicht genau bekannt.

Die Hauptmethoden sind folgende:

1. Hämatoxylineisen nach Benda. Die Schnitte kommen für 24 Stunden in Liquor ferri sulfur. der Pharmakopoe, der mit dem gleichen Volum destillirten Wassers verdünnnt ist, werden dann zunächst mit destillirtem und darauf mit Leitungswasser gut ausgewaschen und in eine 1%ige wässerige Hämatoxylinlösung übertragen. Die ganz schwarz gefärbten Schnitte werden in Wasser gewaschen und in dünner Essigsäure (5—30%) oder stark verdünntem Liquor ferri sulf. (1 : 20) differenzirt.

2. Hämatoxylineisen nach M. Heidenhain (mit Eisenalaun) s. pag. 517.

3. Hämatoxylineisen nach Bütschli. Die Schnitte kommen nach einander in eine schwache Lösung von Eisenacetat, in Wasser und in eine ½%ige Lösung von Hämatoxylin. Sie werden ganz tief braunschwarz oder blauschwarz und müssen daher, um nicht undurchsichtig zu werden, äusserst dünn sein.

4. Hämatoxylineisen nach WEIGERT. Für die Mitosen im Centralnervensystem. Schnitte durch Material, das in 96%igem Alkohol fixirt und ohne Einbettung geschnitten worden ist, legt man auf eine halbe Stunde in Tinct. Ferri acet. Rademacheri, spült sie in Wasser ab, bringt sie auf eine halbe Stunde in WEIGERT's Hämatoxylinlösung (1 Grm. Häm., 10 Ccm. Alkohol, 100 Ccm. Wasser), spült sie wieder ab, differenzirt sie rasch in saurem 70%igem Alkohol (1% Salzsäure), spült sie nochmals ab und schliesst sie entwässert in Balsam ein.

5. Ueber die Färbung der Markscheiden nach KAISER s. Nervenfasern.

E. Hämatoxylin mit Kupfer. Bereits nebenbei von BÖHMER angewandt (s. oben pag. 506). Auch hier wird gewöhnlich zuerst das Kupfer in die Gewebe (meist in toto, aber auch Schnitte) eingeführt, nachher das Hämatoxylin, und dann wird die diffuse Färbung, wenn man besonders die Kerne tingirt haben will, wie beim Eisen durch eine Säure, oder zur Tinktion der Nervenfasern durch ein Gemisch von Borax und rothem Blutlaugensalz, auch wohl in komplicirterer Weise durch Kaliumhypermanganat und schwefelige Säure in eine distinkte verwandelt.

Die wichtigeren Methoden sind folgende:

1. Methode von WEIGERT für die markhaltigen Nervenfasern. S. bei Nervenfasern.

2. Hämatoxylinkupfer nach BENDA. Die Schnitte von Material, das in FLEMMING's Gemisch konservirt worden ist, kommen in eine koncentrirte Lösung von Kupferacetat (24 Stunden lang bei 40° C., sonst 48 Stunden) und dann nach gutem Auswaschen mit Wasser auf einige Minuten in eine 1%ige wässerige Lösung von Hämatoxylin, wo sie dunkelgrau bis schwarz werden. Entfärbt werden sie bis zu hellgelb in $^1/_5$%iger Salzsäure und gelangen zur Entfernung der Säure wieder in die Kupferlösung, wo sie blaugrau werden; dann werden sie gewaschen, entwässert und in Balsam eingeschlossen. Die Methode soll sich besonders zum Studium der Spermatogenese eignen.

F. Hämatoxylin mit Molybdän. Dient wesentlich zur Tinktion des Nervensystems. Die Methode rührt von MALLORY her: man färbt die Schnitte in einem alten Gemisch von 1 Theil Hämatoxylin, 6—10 Theilen Chloralhydrat, 1 Theil 10%iger Phosphormolybdänsäure und 100 Theilen Wasser. — S. auch unten bei G. — RIBBERT wendet die Methode auch für Bindegewebsfibrillen an, beizt aber die Schnitte noch besonders mit der Phosphormolybdänsäure. Er verwendet ein etwas anderes Gemisch, ebenfalls nach MALLORY: 10 Ccm. 10%ige Säure, 1,75 Grm. Hämatoxylin, 5 Grm. Karbolsäure, 200 Ccm. Wasser.

G. Hämatoxylin mit anderen Metallen. Mit Magnesium (Hämatoxylin in Magnesiawasser gelöst) als Basis hat P. MAYER nur wenig haltbare Färbungen erhalten. — HERMANN behandelt zur Färbung des Zellplasmas seine Objekte erst in toto mit Hämatoxylin in alkoholischer Lösung und differenzirt dann die Paraffinschnitte nach PAL mit Kaliumhypermanganat etc.; da er aber zur Fixirung sein Platinosmiumgemisch verwendet, so ist nicht klar, welches der beiden Metalle hier als Basis für die Färbung dient. Er färbt überdies mit Safranin nach. — M. HEIDENHAIN nimmt Vanadium: er färbt die Schnitte von Material, das in Sublimat fixirt worden ist, mit einem Gemisch von 2 Theilen $^1/_2$%iger wässeriger Lösung von Hämatoxylin und 1 Theil $^1/_4$%iger wässeriger Lösung von Ammoniumvanadat, das aber nur vom 5.—10. Tage nach der Bereitung brauchbar sein, besonders das Zellplasma färben und starke Metachromasien hervorbringen soll. — MALLORY verwendet als Basis Wolfram (1 Liter 1%ige Lösung von Phosphorwolframsäure, 1 Grm. Hämatoxylin; oder: 200 Ccm.

10%iger Lösung der Säure, 800 Ccm. Wasser, 2 Ccm. Wasserstoffhyperoxyd, 1 Grm. Hämatoxylin). — GUIGNARD behandelt Material, das mit Alkohol fixirt ist, mit einer 10%igen Lösung von Zinksulfat und erhält dann mit Hämatoxylin eine Färbung, die sich aber nicht unverändert in Balsam überführen lässt. — BOLTON endlich bringt zur Färbung der Nervenfasern (Markscheiden und Axencylinder) Eisschnitte der mit Formol fixirten Gewebe erst in wässerige Lösungen von allerlei Metallsalzen (z. B. Mangan, Wismuth, Kobalt, Nickel, Uran, Zink etc.), färbt sie dann im Gemisch von KULTSCHITZKY (1 Grm. Hämatoxylin in 100 Ccm. 2%iger Essigsäure gelöst) und differenzirt die Färbung nach PAL. Besonders gut soll die Beizung mit 1%iger Osmiumsäure oder 2%iger Lösung von Eisenalaun oder Ammoniummolybdänat sein.

Litteratur: MAYER (Mitth. Zool. St. Neapel, Bd. 10, 1891), derselbe (ebenda, 1892), derselbe (Zeit. Wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), LEE und MAYER (Grundzüge). *Mayer*, Neapel.

Hämateïn ($C_{16}H_{12}O_6$, genauere Konstitution noch unbekannt), von seinem Entdecker CHEVREUL 1810 Hämatin genannt, entsteht aus dem Hämatoxylin ($C_{16}H_{14}O_6$) durch vorsichtige Oxydation, indem man dieses z. B. in heisser wässeriger Lösung mit Kaliumhypermanganat oder Wasserstoffhyperoxyd, rothem Blutlaugensalz, Quecksilberoxyd, Ammoniumpersulfat etc. versetzt; treibt man die Oxydation zu weit, so geht das Hämateïn in Oxalsäure über. Auch beim Stehenlassen einer Lösung an der Luft oder Durchleiten von Luft durch sie bildet es sich, und selbst die Krystalle des Hämatoxylins überziehen sich allmählich mit einer ganz dünnen Schicht davon. Krystallisirt ist das Hämateïn im Handel nicht zu haben und die technische Art seiner Bereitung ist nicht bekannt. Es ist löslich in Wasser, Alkohol, Essigsäure, Aether, besonders leicht und mit violetter Farbe in Alkalien, unlöslich in Chloroform und Benzol. Alte Lösungen verderben durch Oxydation.

Für die Bedürfnisse des Mikrotechnikers genügt an Stelle des reinen Hämateïns meist eine alte Lösung von Hämatoxylin in Alkohol, besser aber noch das Hämateïnammoniak ($C_{16}H_{12}O_6 + 2NH_3$?), das man sich leicht selbst bereiten, indessen auch z. B. bei Grübler & Hollborn in Leipzig haben kann.

Bereitung des Hämateïnammoniaks nach P. MAYER. Man löst 1 Grm. Hämatoxylin durch Erwärmen in 20 Grm. destillirten Wassers, filtrirt, wenn nöthig, giebt 1 Ccm. Ammoniak (von 0,875 spec. Gew.) hinzu und giesst die Flüssigkeit in eine Schale, die so geräumig ist, dass jene darin nicht höher als 1/2 Cm. steht. Man lässt nun bei gewöhnlicher Temperatur (womöglich in der Sonne) an einem staubfreien Orte das Wasser und Ammoniak verdunsten und kratzt den Rückstand, der etwa 1 Grm. betragen muss, von der Schale los. Beschleunigung der Operation durch Abdampfen in der Wärme liefert Nebenprodukte, die in Alkohol unlöslich sind; auch darf man die Flüssigkeit nur mit Stäben (oder Spateln etc.) aus Glas, Porzellan oder Platin umrühren. Verdunstet die Flüssigkeit zu rasch, so kann ein Theil des Hämatoxylins wieder auskrystallisiren; man muss dann etwas Ammoniak und eventuell auch etwas Wasser hinzusetzen.

Das Hämateïnammoniak ist nicht krystallisirt. Aus nicht näher bekannten Gründen fällt es, in obiger Weise dargestellt, nicht allemal gleich dunkel aus: vielleicht enthält es noch Stufen zwischen dem Hämateïn und Hämatoxylin. Die Handelswaare leidet übrigens an demselben Fehler. Jedenfalls muss es sich ganz in Wasser oder Alkohol lösen, und die Lösung darf bei Zusatz von Essigsäure nicht merklich trübe werden, sonst ist die Oxydation zu weit gegangen. In den Färbgemischen leistet das Hämateïnammoniak genau dieselben Dienste wie das Hämatein.

A. Hämateïn (oder Hämateïnammoniak) ohne weiteren Zusatz wird zum Färben bisher noch weniger gebraucht als das Hämatoxylin (s. pag. 506);

dies gilt auch von den Verbindungen mit Chrom, Eisen, Kupfer etc., die zwar ebenfalls mit ihm hergestellt werden können, aber fast stets mit Hämatoxylin bereitet werden. Viel wird dagegen neuerdings die Verbindung des Hämateins mit Aluminium benutzt, da sie vor der analogen des Hämatoxylins den Vorzug besitzt, sofort zum Gebrauch fertig zu sein.

B. Hämateïn mit Aluminium. Beim Mischen einer wässerigen Lösung von Hämateïn mit relativ wenig Alaunlösung bildet sich ein Niederschlag von Hämateïnthonerde, dessen Zusammensetzung nicht näher bekannt ist und auch nicht immer gleich zu sein scheint. Die Hämateïnthonerde, im Ueberschuss von Alaun, aber auch in Chloraluminium, in Säuren etc. löslich, dient zum Färben der Zellkerne; denn wie letztere aus reiner Alaunlösung die Thonerde an sich binden, so nehmen sie bei Gegenwart von Hämateïn auch dieses in sich auf.

Obwohl man das Hämateïn und die Thonerde den Geweben nacheinander zuführen kann und dann auch Färbungen erzielt, so geschieht dies doch nur selten (s. unten bei Hämalaun). Allermeist werden beide Komponenten in einer und derselben Lösung dem Objekte dargeboten. Je nach der Zusammensetzung des Färbgemisches nun fallen die Färbungen in verschiedenen Tönen von Blau bis Roth aus: neutrale Gemische tingiren mehr blau, saure mehr roth. Gewöhnlich verleiht man den Geweben, die aus einem sauren Gemische kommen, einen blauen Ton, indem man sie in ganz schwaches Ammoniak bringt, aber man erhält dasselbe Resultat auch durch Auswaschen mit Brunnen- oder Leitungswasser, das in der Regel etwas alkalisch reagirt, oder durch einen Zusatz von Natriumbikarbonat oder von Kalium- oder Natriumacetat (1 : 200 bis 1 : 100) zum Waschwasser (oder später zum Alkohol). Das ist auch vorzuziehen, da Ammoniak zarten Objekten leicht schadet. Die Bläuung beruht übrigens nicht auf einem einfachen Neutralisiren der Gewebe, denn die genannten Acetate schlagen selbst bei Gegenwart von freier Essigsäure den Farbstoff blau nieder; vielmehr fällt das Ammoniak etc. die Thonerde aus, und diese reisst das Hämateïn mit nieder (ohne Thonerde würde das Hämateïn durch Ammoniak violett werden).

Einige Hämateïngemische, die relativ zu viel Hämateïn enthalten, haben eine grosse Neigung zum Ueberfärben. Man zieht das Zuviel hinterher leicht durch Auswaschen mit Alaunlösung, noch leichter mit ganz schwachen Säuren (z. B. mit Salzsäure von $^1/_{10}$, $^1/_5$ oder $^1/_2$ %, oder Oxalsäure oder Weinsteinsäure) aus, muss dann aber die Säure gründlich wieder entfernen, entweder durch viel reines Wasser (oder Alkohol), oder noch besser durch Ammoniak oder Natriumbikarbonat (in 70 %igem Alkohol). Am besten vermeidet man natürlich von vorneherein die Ueberfärbung, indem man die Objekte nicht zu lange in den Färbgemischen lässt. — Sehr schwache Gemische überfärben nicht leicht, selbst nicht, wenn man die Objekte tagelang darin lässt, aber sie liefern keine reine Kernfärbung, wenigstens nicht, wenn man das starke Färbgemisch nur mit Wasser verdünnt. Will man also reine Kernfärbung haben, so muss man entweder ein dazu taugliches starkes Gemisch nehmen oder es mit einer Alaunlösung verdünnen oder es bei der Verdünnung mit Wasser etwas ansäuern. Enthält aber ein Gemisch viel Glycerin und nicht zugleich Säure, so liefert es nie eine reine Kernfärbung. Manche Forscher wollen geradezu eine Färbung sämmtlicher Theile der Zelle, natürlich in verschiedenen Tönen von Violett und Blau, während andere das Plasma lieber mit besonderen Färbmitteln tingiren (s. hierüber unten bei Doppelfärbungen). Auch zur ganz präcisen Färbung des Schleims lässt sich ein Gemisch (Muchämateïn, s. unten Nr. 7) bereiten.

Die Farbe hält sich in Balsam, bleicht aber gern etwas und zuweilen aus unbekannten Ursachen sogar stark aus, besonders nahe beim Rande

des Deckglases. Hat man beim Färben irgendwie Säuren angewandt, so muss man sie vor dem Einschliessen in Balsam sorgfältig auswaschen (siehe oben). Auch darf man nie Balsam nehmen, der mit Terpentinöl verdünnt ist (s. auch bei Hämalaun). In Glycerin scheint sich die Farbe nicht sonderlich lange zu halten, jedoch sind darüber zuverlässige Ermittelungen noch nicht angestellt worden.

Für wässerige Gemische eignet sich am besten eine Lösung von Alaun, für alkoholische eine von Chloraluminium in 70%igem Alkohol.

1. Hämalaun nach P. Mayer. 1 Grm. Hämateïn (oder Hämateïnammoniak) wird durch Erwärmen in 50 Ccm. Alkohol von 90% gelöst und zu einer Lösung von 50 Grm. Alaun in 1000 Ccm. destillirten Wassers gegossen. Nach dem Erkalten wird eventuell filtrirt. (Man kann auch das Hämateïn statt in Alkohol durch Zerreiben im Mörser mit etwas Glycerin lösen.)

Das Hämalaun ist sofort zum Gebrauch bereit; es ist etwa von der Farbe des Boraxkarmins, wird aber allmählich mehr blauviolett, besonders in Flaschen von leicht zersetzbarem Glase, und bildet auch mit der Zeit an den Wänden der Flasche, auf dem Boden und an der Oberfläche Niederschläge; man schöpft daher am besten mit einer Pipette mitten aus der Flasche und wischt die Pipette, bevor man das Hämalaun aus ihr herausfliessen lässt, aussen gut ab. Es färbt Schnitte manchmal fast augenblicklich, jedenfalls aber in sehr kurzer Zeit, und eignet sich auch vorzüglich zum Durchfärben; dies kann allerdings 24—48 Stunden dauern, und das Auswaschen mitunter ebenso lange. In der Regel resultirt in den Schnitten eine reine Kernfärbung, und jedenfalls lässt sie sich durch Auswaschen mit Alaunwasser (1–2%iger Lösung von Alaun) erzielen; dies gilt auch vom Durchfärben. Man muss aber unter allen Umständen den Alaun (des Hämalauns oder des Alaunwassers) gründlich wieder auswaschen, da er sich sonst im Balsam als Krystalle bemerkbar macht, und thut auch gut daran, nach dem destillirten Wasser noch Leitungswasser oder ein anderes Mittel zum Bläuen der Farbe (s. oben) anzuwenden. Auch zum Verdünnen des Hämalauns (bis auf $^1/_{20}$) nimmt man am besten Alaunwasser, nie aber Leitungswasser. — Beim Ueberführen der gefärbten Objekte in Balsam (oder Paraffin etc.) vermeide man Bergamott- und Nelkenöl und verwende Chloroform, Xylol oder Benzol; auch der Balsam sei nur in einem dieser 3 Stoffe gelöst.

Gerade wie beim Böhmer'schen Hämatoxylin (s. pag. 505) braucht man sich beim Hämalaun nicht genau an die obigen Proportionen zu halten, sondern kann ein Hämalaun extemporiren, indem man zu einer Alaunlösung von gewünschter Stärke einige Tropfen einer Lösung von Hämateïn in Alkohol oder Glycerin hinzufügt. Oder man behandelt die Objekte nacheinander mit einer wässerigen Lösung von Hämateïn und von Alaun, oder auch umgekehrt, und erhält dann je nach den Umständen nur die Kerne oder auch das Plasma gefärbt.

Leider ist wie das Karmalaun auch das Hämalaun nicht gar lange haltbar. Nur Glycerin — und noch besser dieses mit Säure, wie es Ehrlich angegeben hat (s. pag. 506) — hilft, aber dann muss man auf ganz reine Kernfärbung verzichten.

2. Saures Hämalaun nach P. Mayer. Zu Hämalaun setzt man 2% Eisessig (oder 4% Essigsäure von 50%). Anwendung wie oben, Auswaschen mit Leitungswasser zur Bläuung der Farbe erforderlich. Färbt noch präciser als das Hämalaun und hält sich auch länger unzersetzt.

3. Glychämalaun nach P. Mayer. Man zerreibt 0,4 Grm. Hämateïn (oder Hämateïnammoniak) in einem Mörser mit einigen Tropfen Glycerin und setzt dazu eine Lösung von 5 Grm. Alaun in 30 Ccm. Glycerin und

70 Ccm. destillirten Wassers. Eventuell zu filtriren. Hält sich einige Jahre lang (etwas Alaun kann auskrystallisiren), wirkt ziemlich rasch und sehr stark, giebt aber durchaus keine scharfe Kernfärbung; will man diese, so muss man wenigstens mit Alaunwasser, mitunter sogar mit schwacher Säure auswaschen.

Aehnlich in Zusammensetzung, Haltbarkeit und Wirkung ist das Gemisch von Rawitz: 1 Grm. Hämateïn, 6 Grm. Ammoniakalaun, je 200 Ccm. Wasser und Glycerin. Es ist zwar relativ sehr arm an Alaun, aber die Hämateïn-Thonerde wird hier durch das Glycerin in Lösung gehalten statt wie sonst durch den Alaun.

4. Gemische ähnlich dem Hämalaun. Es ist ohne Weiteres klar, dass man ein frisches Alaunhämatoxylin, das noch kaum färbt, durch das rasche Ueberführen des Hämatoxylins in Hämateïn sofort zu einem Färbmittel von den Qualitäten des Hämalauns umgestalten kann, wenn nur die richtigen Proportionen zwischen Alaun und Hämateïn darin gewahrt sind. Allerdings wird meist relativ viel zu viel Hämatoxylin verwandt, aber das tritt bei den Alaunhämatoxylinen im Charakter der Färbung anfangs noch nicht hervor, weil sich dann erst wenig Hämateïn gebildet hat, zeigt sich jedoch, wenn man die Oxydation des Hämatoxylins beschleunigt. Als Oxydans nun verwendet Hansen Kaliumhypermanganat, indem er ein Gemisch von Hämatoxylin, Alaun und Wasser damit kocht. Indessen ist nach Mayer die Gegenwart des Mangans in der Lösung unvortheilhaft. Theoretisch richtiger verfährt Harris: er führt dem Hämatoxylin den Sauerstoff durch Quecksilberoxyd zu, da sowohl dieses als auch das aus ihm entstehende Oxydul sich mit dem Hämateïn nicht verbinden. Er erhitzt die fertige Lösung von 1 Grm. Hämatoxylin und 20 Grm. Alaun in 200 Ccm. Wasser mit $^1/_2$ Grm. Quecksilberoxyd zum Kochen. Jedoch enthält dieses Gemisch relativ zu viel Hämateïn, und nimmt man dieselben Proportionen wie beim Hämalaun, so ist es auch nicht besser als dieses.

Neuerdings hat Mayer mehrere Versuche mit anderen Oxydationsmitteln angestellt. Als unbrauchbar hat sich erwiesen das Magnesiumhyperoxyd. Dagegen sind nicht übel Kalium- oder Ammoniumhypersulfat; die dabei frei werdende geringe Menge Schwefelsäure schadet ja nicht. Für 1 Grm. Hämatoxylin genügen 0,4 Grm. Kaliumhypersulfat. (Auch in 90%igem Alkohol lässt sich das Hämatoxylin damit gut oxydiren, und so hätte man eine bequeme Methode zur Gewinnung des trockenen Hämateïns, wenn man nur die Schwefelsäure auf gute Art loswerden könnte.)

Bei der Benutzung dieser Oxydantia muss man sich genau an die Vorschriften halten, weil man bei zu starker Oxydation das Hämateïn zum Theil oder ganz in Oxalsäure überführt. Andererseits sind die theoretisch richtigen Versuche von Unna, durch Zusatz eines reducirenden Mittels zu einem bereits reifen Gemische dieses vor dem Verderben durch die weitere spontane Oxydation zu schützen, also konstant zu machen, nicht erfolgreich gewesen. Unna löst 1 Grm. Hämatoxylin und 10 Grm. Alaun in 100 Ccm. Alkohol und 200 Ccm. Wasser, lässt das Gemisch 2—3 Tage lang stehen, so dass es bereits einigermassen färbt, und fügt nun 2 Grm. sublimirten Schwefels hinzu. Mayer findet aber, dass der Schwefel das Gemisch doch nicht lange konstant erhält, und empfiehlt seinerseits das Glychämalaun. Ziemlich unveränderliche Gemische sind das von Ehrlich (s. pag. 506 bei Hämatoxylin) und das von Apáthy (s. unten).

5. Hämateïnlösung IA nach Apáthy. Dies Gemisch würde, da es aus Hämatoxylin, nicht direkt aus Hämateïn hergestellt wird, richtiger bei Hämatoxylin unterzubringen sein. Apáthy bereitet zunächst eine Hämateïntinktur, d. h. eine 1%ige Lösung von Hämatoxylin in 70%igem Alkohol, die in nicht ganz voller Flasche bei gewöhnlicher Temperatur etwa

6—8 Wochen gestanden hat und daher bereits ziemlich viel Hämateïn enthält. Von dieser Tinktur giebt er dann 1 Theil zu ebensoviel Glycerin und ebensoviel einer starken Alaunlösung (9% Alaun, 3% Eisessig und 1/10% Salicylsäure in destill. Wasser) und verwendet das Gemisch besonders zur Färbung der nervösen Primitivfibrillen; schon daraus geht hervor, dass es nicht nur die Kerne färbt. Es eignet sich sowohl für Schnitte als auch zum Durchfärben und hält sich auch einige Jahre lang. (Die Hämateïntinktur ist in Neapel bereits nach einem Jahre zum Theil überoxydirt, scheint sich dagegen in kühlerem Klima viel länger zu halten.)

6. Hämacalcium nach P. Mayer. Je 1 Grm. Hämateïn (oder Hämateïnammoniak) und Chloraluminium, 50 Grm. Chlorcalcium, 10 Ccm. Eisessig (oder Essigsäure von 50% 20 Ccm.) und 600 Ccm. Alkohol von 70%. Man reibt die beiden ersten Stoffe fein, löst sie in der Säure und dem Alkohol heiss oder kalt und setzt zuletzt das Chlorcalcium hinzu.

Das Gemisch ist roth-violett; färbt es zu roth, so kann man dem durch Auswaschen mit einer 2%igen Lösung von Chloraluminium in 70%igem Alkohol oder in einer 1/2—1%igen Lösung von Kaliumacetat in absolutem Alkohol abhelfen; gewöhnlich aber werden die Objekte schon durch das Waschen mit neutralem Alkohol violett oder blau.

Das Hämacalcium setzt nach einigen Monaten stark ab. Dem lässt sich einigermassen dadurch begegnen, dass man sich zwei Gemische macht, jedes mit der Hälfte des Alkohols und der Säure, und das eine mit allem Chlorcalcium, das andere mit allem Chloraluminium und Hämateïn; man nimmt dann beim Gebrauche aus jeder Flasche gleich viel.

Bei manchen Objekten dringt das Hämacalcium nicht gut ein; man kann das vermeiden, indem man es ansäuert oder besser noch die Objekte vor dem Färben einige Zeit in angesäuerten Alkohol legt. Ueberhaupt dürfen die Objekte nicht alkalisch reagiren. Wird hierauf geachtet, so ist das Ausziehen der Farbe mit saurem Alkohol nicht nöthig. Bei anderen Objekten (z. B. Hydroiden) dringt das Hämacalcium besser ein, wenn man es mit 1/3 seines Volumens an Glycerin verdünnt oder die Menge des Aluminiumchlorids (bis auf das 8fache) erhöht. — Das Hämacalcium färbt nicht so gut wie Hämalaun; überhaupt ist Mayer der Ansicht, kein alkoholisches Hämateïngemisch könne so distinkt färben, wie die wässerigen, und er empfiehlt das Hämacalcium auch nur als Ersatz des Kleinenberg'schen Gemisches (s. pag. 506), da es leichter anzufertigen und konstanter in seiner Wirkung sei. Denn es giebt ja Objekte, die keine wässerigen Farblösungen vertragen, wenn sie einmal in Alkohol gewesen sind, und für solche eignet sich von den Karmingemischen besonders das Parakarmin, von den Hämateïngemischen das Hämacalcium.

7. Muchämateïn nach P. Mayer. Es giebt ein wässeriges und ein alkoholisches. Zur Bereitung des wässerigen verreibt man 0,2 Grm. Hämateïn mit einigen Tropfen Glycerin und giebt dazu 0,1 Grm. Chloraluminium, 40 Ccm. Glycerin und 60 Ccm. destillirten Wassers. Filtriren kaum nöthig. — Alkoholisches: 0,2 Grm. Hämateïn, 0,1 Grm. Chloraluminium, 100 Ccm. Alkohol (von 70%), 1—2 Tropfen Salpetersäure. Beide Lösungen dienen zur Färbung des Schleimes in Schnitten oder dünnen Membranen; namentlich die wässerige färbt ihn gewöhnlich ungemein rasch, ohne sich um die übrigen Bestandtheile der Zellen zu kümmern. Die Kerne mag man vorher mit Parakarmin färben.

Wenn der Schleim stark zum Quellen neigt, wie z. B. in der Haut von Fischen, so empfiehlt sich seine Färbung mit dem alkoholischen Muchämateïn (oder Mucikarmin), da sonst namentlich auf den Schnitten die Bilder leicht unklar werden. Man muss dann auch beim Fixiren wässerige Gemische möglichst vermeiden.

Harris fertigt das Muchämateïn mit Hämatoxylin an, indem er dieses durch Kochen mit Quecksilberoxyd oxydirt.

8. Doppelfärbungen. Von diesen sind mehrere, aber meist nur für ganz specielle Zwecke empfohlen worden, und zwar nur sehr wenige simultane. In der Regel färbt man in den Stücken die Kerne mit irgend einem Gemisch, das Hämateïnthonerde enthält, also mit einem der gebräuchlichsten Alaunhämatoxyline oder mit Hämalaun, und tingirt nachher auf den Schnitten das Plasma oder sonstige Bestandtheile der Zelle in anderer Weise. Zwar lässt sich z. B. das Hämalaun zu solchen Effekten mit Karmalaun, Säurefuchsin, Indigkarmin etc. mischen; besser noch färbt man aber mit diesen Stoffen nachher besonders, weil man dann die Stärke der Plasmafärbung viel leichter abstufen kann.

Von Eosin, das gewöhnlich ebenfalls getrennt angewendet wird, löst sich in den Alaunhämatoxylinen nur sehr wenig. Ehrlich nimmt auf 200 Ccm. seines Hämatoxylins (s. pag. 507) nur $^1/_2$ Grm., und selbst diese kleine Quantität mag noch das Plasma überfärben. Gewöhnlich tingirt man aber mit dem Eosin in ganz schwacher (hellrother) wässeriger Lösung nach (Schnitte in wenigen Minuten) und zieht eventuell die Ueberfärbung durch Alkohol aus. Man kann auch mit wässeriger Eosinlösung 24 Stunden lang vorfärben und erst dann das Alaunhämatoxylin oder -hämateïn verwenden. — Sehr komplicirt, irrationell und wohl unnöthig sind die Gemische von Renaut, nämlich eine koncentrirte Lösung von Alaun in Glycerin, vermengt mit einer alten alkoholischen Lösung von Hämatoxylin und einer wässerigen von Eosin; die Objekte färben sich darin natürlich äusserst langsam.

Scharfe Kontraste giebt das Orange G, das man gewöhnlich in 1%iger wässeriger Lösung, aber auch wohl in starkem Alkohol gelöst anwendet, und zwar meist, nachdem man in toto mit Hämalaun gefärbt hat, oder vorher. Es lässt sich ferner mit Säurefuchsin kombiniren; auch dieses allein liefert gute Bilder, und man färbt damit ebenfalls entweder in wässeriger oder alkoholischer Lösung (z. B. mit koncentrirter in absolutem Alkohol, die ja sehr schwach ist).

Pikrinsäure wird zum Nachfärben nur wenig angewandt. Man muss bei ihrem Gebrauch sehr vorsichtig sein, da sie das Blau der Hämateïnthonerde angreift, kann sie übrigens nicht nur wässerig oder alkoholisch, sondern (vielleicht am besten, jedenfalls am bequemsten) in Benzol gelöst auf die Schnitte wirken lassen.

Gebräuchlicher ist die Nachfärbung mit Pikrinsäure und Säurefuchsin, die van Gieson zuerst angegeben hat. Man braucht dazu eine koncentrirte Lösung von Pikrinsäure, der auf 100 Ccm. einige Tropfen einer ebensolchen Lösung (oder 5 Ccm. einer 1%igen Lösung) von Säurefuchsin zugesetzt worden sind. Speciell zur Färbung des Bindegewebes haben diese Methode Schaffer und Hansen umgestaltet. Jener verwendet 0,1 bis 0,15 Grm. Säurefuchsin auf 100 Ccm. kalt gesättigte Pikrinsäurelösung und unter Umständen mit dem Zusatz von 2 Tropfen Eisessig; er überträgt die Schnitte direkt in Alkohol von 95%. Hansen sieht der grösseren Schärfe der Färbung halber in der Regel von der Vorfärbung mit Hämalaun oder Alaunhämatoxylin ab. Er nimmt auf 100 Ccm. Pikrinsäurelösung (von 1,15 bis 1,20%) 5 Ccm. einer 2%igen Lösung von Säurefuchsin, versetzt sie aber beim Färben mit ganz wenig Essigsäure (auf je 9 Ccm. nur 1 Tropfen der 2%igen Säure), spült die Schnitte, die in der Regel schon nach 1 bis 2 Minuten typisch gefärbt sind, 2—4 Sekunden lang mit Wasser ab, dem etwas von dem Färbgemisch (2 Tropfen auf je 3 Ccm.) zugesetzt worden ist, und bringt sie von da direkt in 96%igen Alkohol, dann durch absoluten und Xylol in Balsam; der Alkohol zieht die überschüssige Pikrinsäure aus.

Statt der Pikrinsäure nimmt APÁTHY Ammoniumpikrat (in 500 Ccm. einer koncentrirten Lösung 1 Grm. Säurefuchsin gelöst) und färbt damit die zuvor mit Hämalaun gefärbten Schnitte nach.

PALADINO verwendet ein nicht genau angegebenes Gemisch von »Hämatoxylin« und Biebricher Scharlach.

Besonders für Schnitte durch den Magen, aber auch für Eier ist eine Doppelfärbung mit Alaunhämatoxylin und nachher mit Kongoroth (in wässeriger Lösung, etwa 1 : 200) empfohlen worden.

Safranin in Verbindung mit Alaunhämatoxylin kann in verschiedener Weise benutzt werden. So mischt FOÀ zur Untersuchung von Knochenmark BÖHMER's Hämatoxylin 25 Ccm., Safranin (die gewöhnliche 1%ige Lösung in Alkohol und Wasser) 20 Ccm. und Wasser 100 Ccm. Er färbt die Schnitte darin 1—3 Minuten lang, wäscht sie aus und entwässert sie entweder sofort oder färbt sie erst noch mit einer schwachen Lösung von Pikrinsäure (oder auch von Orange). — REGAUD färbt die Schnitte erst mit Hämalaun, dann mit Safranin (nach ZWAARDEMAKER; s. bei Safranin) und differenzirt die Färbung mit saurem Alkohol. — C. RABL färbt zuerst das Plasma mit sehr verdünntem Gemisch von Delafield 24 Stunden lang so hell, dass die Farbe allein gar nicht zu brauchen wäre, wäscht mit Wasser, dann mit saurem Alkohol, färbt mehrere Stunden lang in PFITZNER's Safranin und wäscht mit neutralem Alkohol aus.

Ueber die Doppelfärbungen, bei denen das Karmin eine Rolle spielt, s. unten bei Karmin.

C. Hämateïn mit anderen Metallen. Die vielen hierbei mit gutem Erfolg verwendbaren Kombinationen lassen sich wenigstens ebenso bequem mit Hämatoxylin anfertigen und werden auch fast ausschliesslich damit gemacht (s. pag. 507 ff.).

Litteratur: UNNA (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1892); siehe ferner die Litteratur bei Hämatoxylin.

Mayer, Neapel.

Hämatoxylin-Chromsalze. Die Aera der modernen Hämatoxylinfärbungen wurde eröffnet mit der Entdeckung des Chromhämatoxylins durch R. HEIDENHAIN. Zwar war dasselbe schon seit undenklichen Zeiten in Benutzung zur Schwarzfärbung der Gespinnstfasern (Blauholzextrakt mit Chrombeize), allein man wusste in der Histologie nichts davon. R. HEIDENHAIN zeigte nun, dass man prachtvolle schwarze bis eisengraue Totalfärbungen der geweblichen Strukturen erzielen kann, wenn man die am besten in Alkohol oder Pikrinsäure fixirten Stücke in einer 0,5—1%igen Lösung von Haematox. puriss. färbt und später eine Beize von 0,5—1%igem doppeltchromsaurem Kali nachfolgen lässt (ebenfalls auf 12—24 Stunden). Das Chromsalz muss vorzüglich ausgewaschen werden, ehe die Einbettung der Stücke erfolgt. Die Schnitte von möglichst geringer Dicke dürfen mit ätherischen Oelen nicht in Berührung gebracht werden, da sie sonst leicht verbleichen, und müssen wegen der leichten Oxydirbarkeit der Farbe mit wenig neutralem Balsam unter einem grossen Deckglas eingelegt werden.

Diese Färbung ist für gewisse Zwecke auch heute noch unentbehrlich, denn wir haben kein anderes Verfahren, welches einerseits die »Durchfärbung« ganzer Stücke gestattet, andererseits trotz dieser so primitiven Technik viele Feinheiten der Plasma- und Kernstruktur zeigt. Demgegenüber scheint es bedauerlich, dass der gewünschte Färbungseffekt oft nicht eintritt, vielmehr das Gewebe sich vergilbt, schwächlich und unscharf gefärbt zeigt. Dieser Uebelstand wird wahrscheinlich durch zwei verschiedene Ursachen bedingt, nämlich: 1. durch saure Reaktion der Gewebe (nach Sublimathärtung, Chromsäure etc.), 2. durch die oxydirende Wirkung des Kaliumbichromates. Die Vorschläge, die zur Verbesserung des Verfahrens später gemacht worden

sind, sind zahlreich genug (Apáthy, R. Heidenhain, von Kostanecki); wir vereinigen unsere Erfahrungen mit denen der Autoren und empfehlen folgende Punkte der Berücksichtigung:

1. Möglichst gutes Auswaschen sauer fixirter Stücke, eventuell Neutralisation derselben.

2. Färbung aus einer relativ starken, also 1%igen wässerigen Hämatoxylinlösung.

3. Benutzung einer schwachen Lösung von Kalium bichromicum (wahrscheinlich genügt 0,1%), um die oxydirende Wirkung abzuschwächen. Es ist beinahe sicher, dass der Chromlack ebensogut auch durch äusserst verdünnte Lösungen producirt wird.

4. Lösung des chromsauren Salzes in Alkohol (Apáthy), wodurch die Zersetzung des Salzes (Säureabspaltung) gehemmt wird.

5. Gutes Auswaschen des chromsauren Salzes in Leitungswasser oder destillirtem Wasser, welchem ein wenig kohlensaures Alkali zugesetzt ist.

6. Vermeidung ätherischer Oele bei der Einbettung, eventuell Schwefelkohlenstoffeinbettung (siehe diese). Vergl. auch pag. 507 ff.

Heidenhain, Tübingen.

Hämatoxylineisen. Das Eisenhämatoxylin wurde zuerst durch Benda in die histologische Technik eingeführt. Später haben verschiedene Autoren Eisenhämatoxylinfärbungen beschrieben. Die jetzt wohl allgemein gebräuchliche Methode, welche besonders zur Darstellung der Centralkörper benutzt wird, rührt von M. Heidenhain [92]) her.

Es werden beliebig fixirte Präparate, am besten jedoch solche aus Sublimat, Alkohol, Trichloressigsäure oder Carnoy'scher Flüssigkeit, möglichst dünn (grosszellige Gewebe 5—6 μ, kleinzellige Gewebe im Mittel 3 μ) und gleichmässig (!) geschnitten, aufgeklebt und in einer 2,5%igen Lösung des violetten Eisenalauns (schwefelsaures Eisenoxydammon) 3—12 Stunden lang gebeizt. Hierbei sollen die Objektträger senkrecht in der Beizflüssigkeit stehen, damit etwaige Niederschläge von Eisenoxyd sich nicht auf den Schnitten absetzen können. Alsdann wird kurz mit Wasser abgespült und in reiner, 0,5%iger, 4—6 Wochen alter Lösung von Hämatoxylinum purissimum gefärbt. Am besten nimmt man das Weigert'sche Hämatoxylin, welches auf die Hälfte verdünnt wird. Gefärbt wird 12—24—36 Stunden lang. Hierauf differenzirt man in der Beizflüssigkeit. Die Differentiation geht langsam vor sich und muss unter dem Mikroskop kontrollirt werden. Zu dem Behufe darf die Entfärbungsprocedur beliebig oft unterbrochen werden. Dies geschieht am besten und in vollständig unschädlicher Weise dadurch, dass man den aus der Beizflüssigkeit herausgezogenen Objektträger in einem Gefäss, welches 1 bis 2 Liter Leitungswasser enthält, abspült. Nicht destillirtes Wasser zersetzt das Eisensalz sofort und sistirt demgemäss die weitere Entfärbung. Die Kontrolle feinerer Färbungen geschieht am besten an der Hand der Wasserimmersion D* von Zeiss, welche einen sebr weiten Fokalabstand besitzt und für die Untersuchung in Wasser liegender Schnitte Vorzügliches leistet. Ist der gewünschte Extraktionseffekt erreicht, so wird eine Viertelstunde lang in fliessendem Wasser abgespült und in Balsam eingeschlossen. Cave: ätherische Oele, dicke Balsamschicht, kleines Deckglas, vielmehr: Xylol, wenig neutraler Balsam, grosses Deckglas; Nachfärbungen: saure Anilinfarben, besonders Rubin. Die Schnitte dürfen in letzterem Fall schwach sauer eingelegt werden.

Durch diese Methode werden dargestellt: In erster Linie Centralkörper, Kerne (Chromatin), Schlussleisten; ferner auch die Centralkapseln, die Basalstücke der Cilien und Darmstäbchen, gewisse faserige Differenzirungen des Zellleibes (Wimperwurzeln, Pseudochromosomen etc.), verschiedene Formen

der Sekretgranula (in den Speicheldrüsen, Pankreas, überhaupt in Eiweissdrüsen) und Pigmentkörner (genuines Pigment der Nieren), NISSL'sche Granula und schliesslich nicht zum Wenigsten die Streifen Q (auch Z) der Muskelsubstanz.

Da die Methode ursprünglich als Centralkörperfärbung ausgearbeitet worden war, so ergab sich bald das Bedürfniss, das Zellprotoplasma sammt allen Einschlüssen möglichst stark zu entfärben, während hierbei die Centralkörperfärbung unangetastet bleiben sollte. Diesen Zweck erreicht man, wenn man die Schnitte vor der Eisenhämatoxylinfärbung mit Bordeaux R oder Anilinblau vorfärbt (siehe Methode der subtraktiven Tinktion im Artikel »Allgemeine Methode der histologischen Färbungen«). Beim Differenziren stellt sich dann heraus, dass der gesammte Zellleib die Farbe sehr viel rascher und vollständiger entlässt, als dies sonst der Fall ist, während die Centralkörper selbst die Farbe zurückbehalten. Ein Uebelstand ist bei dieser Abänderung des Verfahrens, dass sich die Kerne sehr stark entfärben (besonders bei Anwendung von Bordeaux R). Vergl. auch pag. 508 ff.

Litteratur: BENDA (Verh. Physiol. Ges., Berlin, Jahrg. 1885/96), HEIDENHAIN (Fest. f. KÖLLIKER, 1892), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896). *Heidenhain*, Tübingen.

Hämatoxylinvanadium. Es werden 60 Ccm. einer 0,5%igen Lösung von Haematox. purissim. mit einer 0,25%igen Lösung von Ammonium vanadinicum zusammengegossen (bei Zimmertemperatur! cave: Erhitzen). Es entsteht eine schöne blaue Lösung, welche etwa am 3.—4. Tage brauchbar wird, aber schon nach 8—10 Tagen ihre guten Eigenschaften gänzlich eingebüsst hat. Man kann mit Vortheil nur feine Schnitte von in Sublimat fixirten Stücken tingiren und sollen sich bei diesen starke Metachromasien zeigen.

Färbungsresultate: Starke Protoplasmafärbung in gewöhnlich sepiabraunem Tone (besonders schön: Schleimspeicheldrüsen), starke Färbung des Oxychromatins, schwache des Basichromatins, gewöhnlich Gelbfärbung der Nukleolen, oft Blaufärbung des Mucins und des Bindegewebs, Orangefärbung der rothen Blutkörperchen, die Muskulatur meist schön goldbraun (Sarkolemm und Streifen Z wurden am Herzen bläulich erhalten).

Diese Färbung ist über Jahre hinaus konstant, dürfte aber nur von geübten Händen mit Vortheil benutzt werden. *Heidenhain*, Tübingen.

Hämatozoën siehe Parasiten, thierische, siehe auch Malaria.

Häminkrystalle siehe Blut, forensisch.

Hämoglobinkrystalle siehe Blutkrystalle.

Hämosporidien siehe Parasiten, thierische.

Hängender Tropfen siehe Lebendes Gewebe, Untersuchung desselben.

Härten. In früheren Perioden der Mikrotechnik hat man Härten und Fixiren vielfach für gleichbedeutend gehalten, hauptsächlich wohl deshalb, weil die früher angewandten Fixationsmittel, wie vor allem die Chromsäure und ihre Salze und der Alkohol, den Objekten eine gute Schnittkonsistenz verliehen. Damals, als der Mikrotechniker bei dem Mangel guter Einbettungsmethoden und geeigneter Instrumente zum Schneiden auf das Rasirmesser zum Anfertigen dünner Schnitte angewiesen war, war die Härtung ein sehr wichtiger Process.

Heute spielt das Härten mikroskopischer Objekte nur eine ganz untergeordnete Rolle und bei derjenigen Operation, die man auch heute noch vielfach als Härten bezeichnet, nämlich bei der Nachbehandlung des fixirten Objektes mit Alkohol von steigender Koncentration, ist uns das Hartwerden

des Objekts meistens ein ganz nebensächlicher, häufig sogar ein wenig willkommener Umstand.

Wohl die meisten Fixationsmittel härten die mit ihnen behandelten Objekte, die einen mehr, die anderen weniger, die einen in kürzerer Zeit, die anderen erst nach längerer Behandlung. Am meisten und am schnellsten härtend wirkt die Chromsäure und der Alkohol. Die erstere macht vielfach die Objekte nach kurzer Zeit schon brüchig. Bedeutend langsamer härten die chromsauren Salze und Osmiumsäure. Rasch, aber weniger intensiv härtet Formol. Am wenigsten härtend wirkt die Salpetersäure. Pikrinsäure dürfte ungefähr in der Mitte stehen. Ein sehr gutes und viel gebrauchtes Härtungsmittel ist die Kälte, eine ähnliche, aber weit weniger intensive Wirkung erzielt man durch Anwendung hoher Temperaturen (Kochen).

Die wenigen angeführten Beispiele lassen erkennen, um wie verschiedene Processe es sich bei den verschiedenen Härtungsmethoden handelt, um rein physikalische (Aenderung des Aggregatzustandes), um Wasserentziehung, Koagulation und Fällung der Eiweisskörper. (Näheres siehe auch in dem Artikel Fixation).

Harnblase. Zur Fixation der Harnblasenwand eignen sich vor allem die CARNOY'sche (EGGELING), die ZENKER'sche und die FLEMMING'sche Flüssigkeit (DOGIEL), konc. Sublimat (ZIMMERMANN), Alkohol (HAMBURGER), Alkoholformol (LENDORF). Wenn es nicht auf die Untersuchung der Blasenwand im kontrahirten Zustand ankommt, thut man gut, die Blase mit der Fixationsflüssigkeit von der Harnröhre aus zu füllen; andernfalls steckt man kleine Stücke der Wandung mit Igelstacheln auf Wachsplatten auf. Nach LENDORF soll man auch für letzteren Zweck gute Resultate erhalten, wenn man Formol in das Rektum injicirt. Ist die Blase noch mit Urin gefüllt, so kann man sie abbinden, ausschneiden und in toto in die Fixationslösung einlegen.

Das Schneiden dieser Stückchen in Paraffin macht nicht selten Schwierigkeiten, da sich dieselben nur recht schwer mit Paraffin durchtränken. Man sollte sie deshalb möglichst lange (24 Stunden) in einem weichen Paraffin bei möglichst niederer Temperatur belassen.

Zur Maceration der Blasenepithelien können die gewöhnlichen Mittel Drittelalkohol, verdünnte MÜLLER'sche Flüssigkeit, dünne Osmiumsäure, Alaunkarmin etc. mit Vortheil Verwendung finden.

Zur Färbung der Nerven der Harnblase kann man sowohl die Methylenblau- als die Goldmethode verwenden. Im ersteren Falle entleert man die Blase des eben getödteten Thieres, spült mit Kochsalzlösung aus und injicirt in die Blase eine $^1/_4$%ige Methylenblaulösung. Nach 2—3 Stunden wird geöffnet und die Schleimhaut der Luft ausgesetzt. LENDORF verwendet bei Mäusen zu demselben Zwecke subkutane oder intraperitoneale Injektion gesättigter Methylenblaulösung. Bei grösseren Thieren färbt er auf dem Objektträger. Auch zur Vergoldung thut man gut, sich der Injektionsmethode zu bedienen. Man injicirt zunächst 2%ige Essigsäure oder Citronensaft, lässt 10—20 Minuten liegen, öffnet dann und legt die Stücke in Goldchlorid ein (Näheres siehe Goldmethoden). Reduktion in verdünnter Ameisensäure, der man nach BERNHEIM ein Körnchen schwefligsauren Natrons zusetzt. Vor dem Verbringen in die Goldlösung kann man mittels eines Pinsels versuchen, das Epithel möglichst zu entfernen. CUCCATI injicirt zum Studium der Nerven eine Lösung von pikrinsaurem Ammoniak.

Litteratur: EGGELING (Anat. Anz., Bd. 20, 1901), DOGIEL (Arch. mikr. Anat., Bd. 35, 1890), ZIMMERMANN (ebenda, Bd. 52, 1898), HAMBURGER (ebenda, Bd. 17, 1880), LENDORF Anat. Hefte, 56/57, 1901), BERNHEIM (Arch. Physiol., 1892), WOLF (Arch. mikr. Anat., Bd. 19, (1881), CUCCATI (Mem. R. Acc. Sc. Ist., Bologna, Bd. 9, 1889), LANDAU (Arch. Physiol., 1881).

Harnleiter. Für ihn gelten im wesentlichen dieselben Behandlungsmethoden wie für die Harnblase. Um eine Verkrümmung bei der Fixation zu vermeiden, bindet man ihn am besten auf einen Glasstab fest.

Harnsäure. Zum Nachweis der Harnsäure in Geweben fixirt Saint-Hilaire die Objekte in Alkohol und bettet in Celloidin ein. Die Schnitte kommen für einige Minuten in 5—10%igo Kupfersulfatlösung und dann direkt für 1—2 Minuten in eine siedende gesättigte Lösung von Natriumbisulfit. Es bildet sich dadurch schwer lösliches harnsaures Kupferoxydul. Dann sorgfältig in Wasser auswaschen und Behandeln mit einer Lösung von Ferrocyankalium. Die Harnsäurekonkremente erscheinen roth gefärbt.

Harnsedimente, Färbung derselben. Die Färbung eines Harnsediments kann in doppelter Absicht geschehen, einmal zu dem Zweck, Bestandtheile, welche in einem ungefärbten Präparat desselben wenig oder gar nicht erkennbar sind, überhaupt besser hervortreten zu lassen, und zweitens, um gewisse morphologische Verhältnisse, Besonderheiten der verschiedenen im Sediment vorkommenden Zellformen, ihrer Struktur, Kernverhältnisse u. s. w. zu erforschen und eventuell auf ihre Herkunft, auf die Natur des zugrunde liegenden Krankheitsprocesses Schlüsse zu ziehen, endlich zur Erkennung von Bakterien.

Handelt es sich nur um den erstgenannten Zweck, so genügt der Zusatz einer nicht koncentrirten Lösung irgend eines in der mikroskopischen Färbetechnik gebräuchlichen Farbstoffs oder auch der bekannten Lugol'schen Jodlösung (Jod 0,2, Kal. jodat. 0,4—0,5, Aq. 200). Dabei färben sich vorzugsweise alle morphotischen Bestandtheile, während die krystallinischen Gebilde, die ausgefallenen Salze u. s. w. gewöhnlich nur schwach oder gar nicht sich färben, aber trotzdem wegen ihrer stärkeren Lichtbrechung sichtbar bleiben, wie in dem ungefärbten Präparat. Nur die Harnsäure und ihre Salze pflegen (goldgelb) gefärbt zu erscheinen, da sie im sauren Urin auftreten, der dunkler gefärbt ist als alkalischer Urin, und aus dem sie den Farbstoff niederreissen.

Im übrigen sind die krystallinischen Sedimente schon danach leicht zu unterscheiden, ob sie in saurem oder alkalischem oder auch neutralem Urin auftreten.

Im sauren Urin treten, wie gesagt, die gewöhnlich mehr oder weniger goldgelb gefärbten Urate (als Ziegelmehlsediment) auf in Form feinster Körnchen und die Harnsäure selbst in ebenso gefärbten Krystallen von Tonnen, Rosetten etc. Jene Urate könnten allenfalls mit Mikrokokken verwechselt werden, lassen sich aber leicht von ihnen unterscheiden dadurch, dass sie sich beim Erwärmen lösen, dass auf Zusatz einer Säure die Harnsäure aus ihnen in grossen Krystallen sich ausscheidet und dass sie, wie gesagt, sich nicht färben lassen wie Bakterien (s. unten).

Ferner findet man in saurem Urin oxalsauren Kalk in der charakteristischen Oktaëder- (Briefkouvert-) Gestalt, seltener in Zwillingskrystallen in Form von Hanteln oder Trommelschlägeln. Sie lösen sich nicht in Essigsäure, dagegen in Mineralsäure.

Zu erwähnen ist ferner Cystin, welches in farblosen, sechsseitigen Tafeln auskrystallisirt und in Ammoniak leicht löslich ist.

Wegen anderer, im sauren Urin seltener vorkommender Sedimente, wie Leucin und Tyrosin u. a. m., muss auf die Lehrbücher der Medicin verwiesen werden.

Im alkalischen oder auch neutralen Urin kommen vor:

Tripelphosphate (phosphorsaure Ammoniakmagnesia) in farblosen Prismen (Sargdeckelkrystalle), die sich in den schwächsten Säuren schon lösen, kohlensaurer und phosphorsaurer Kalk und Magnesia, ebenfalls

in allen Säuren löslich, die ersten unter Aufbrausen und endlich in neutralem oder schwach alkalischem Harn; harnsaures Ammoniak, goldgelbe Kugeln, die häufig mit kleinen Krystallspitzen besetzt sind (Morgenstern-Formen), aus denen auf Zusatz von Säuren reine Harnsäure in rhombischen Tafeln und Drusen sich ausscheidet.

Wichtiger ist die Sedimentfärbung zur Erkennung der morphologischen Struktur der Zellen und Zellbestandtheile.

Da für diesen Zweck es oft wünschenswerth ist, verschiedene Färbungen, sei es in einzelnen Farben, sei es mit Farbgemischen zur Anwendung zu bringen, so ist es nöthig, wenn nicht schon durch blosses Absetzenlassen des Urins ein starkes Sediment sich bildet, ein solches durch Centrifugiren des Urins zu gewinnen. In jedem Falle thut man gut, den auf die eine oder andere Art gewonnenen Bodensatz mit physiologischer Kochsalzlösung zu waschen, schon um Reste des Urins, der durch seine gelösten Bestandtheile, durch seine Reaktion den Ausfall der Färbung beeinträchtigen kann, zu entfernen, ganz besonders aber zur Entfernung von Eiweiss, welches ja in solchen Urinen, deren Sediment morphotische Bestandtheile enthält, fast immer vorhanden ist und die Erkennung empfindlich stört.

Man erreicht diese Reinigung schnell und genügend, wenn man das Sediment oder Centrifugat, nachdem man die überstehende Harnschicht vorsichtig abgegossen hat, mit der Kochsalzlösung übergiesst und centrifugirt und das Verfahren nach Abgiessen der Lösung mit einer neuen Portion derselben ein- oder zweimal wiederholt.

Will man das Sediment durch Absetzenlassen gewinnen oder kann aus irgend einem anderen Grunde der Urin nicht in ganz frischem Zustande zur Untersuchung kommen, so muss man ihn, um ihn vor der Zersetzung zu bewahren, durch welche die morphotischen Elemente bis zur Unkenntlichkeit verändert werden, mit ein paar Tropfen Chloroform durchschütteln oder ihm einige Thymol- oder Kampherkrystalle zusetzen.*

Das, wie angegeben, gewonnene Sediment kann man ohne weitere Vorbereitung und am schnellsten mit Methylenblau färben, welches die Kerne gut hervortreten lässt, im übrigen aber die einzelnen Zellformen, soweit sie sich nicht durch ihre Grösse unterscheiden, nicht besonders differenzirt.

In diesen Beziehungen leisten Gemische von basischen und sauren oder verschieden stark basischen Farbstoffen bessere Dienste, namentlich das Ehrlich'sche Triacid, ferner Pappenheim's Pyroninmethylgrün.

Um mit Ehrlich's Triacid zu färben, wird das Präparat auf dem Objekt- oder Deckglas an der Luft oder schneller durch vorsichtiges Erwärmen über einer Flamme getrocknet, die Färbeflüssigkeit mit dem auf dem Objektglas getrockneten Präparat sanft verrieben oder das Deckglas mit dem getrockneten Präparat nach unten auf der Färbeflüssigkeit schwimmen gelassen und getrocknet, besser an der Luft als über der Flamme. Denn je langsamer das Trocknen erfolgt, umso besser gelingt die Färbung. Hierauf wäscht man das Präparat ganz kurz erst mit Wasser, dann mit wenig Alkohol, lässt es trocknen und schliesst es in Kanadabalsam ein (Senator).

Bei dieser Färbung erscheinen die hyalinen Cylinder, ebenso wie die Grundsubstanz anderer Cylinder und das Protoplasma der Zellen violett, ebenso die neutrophile Körnung, die Kerne der Zellen blau oder blaugrün, die rothen Blutkörperchen (bezw. der Blutfarbstoff) orange. Fettkörnchen bleiben ungefärbt und heben sich dadurch von den anderen Elementen ziemlich deutlich ab.

Mit Pappenheim's Pyroninmethylgrünmischung, die am besten jedesmal frisch bereitet wird, färbt man das auf dem Deckglas fixirte Präparat, oder

---

* Doch ist zu bemerken, dass konservirte Präparate im allgemeinen sich weniger gut färben als frische.

man bestreicht erst das Deckglas mit der Farbmischung, lässt sie darauf antrocknen, bringt etwas von dem Sediment mit einer Platinöse auf den Farbstoff und verreibt sanft möglichst gleichmässig. Das Deckglas wird dann mit dem gefärbten Präparat nach unten auf einen hohl geschliffenen Objektträger gelegt und die Ränder mit weissem Vaselin bestrichen, um das Präparat vor Verdunstung zu schützen.

In dem so behandelten Präparat sieht man sofort, besser aber nach 12—24 Stunden, die hyalinen Cylinder violett, andere dunkler blau, das Protoplasma der grossen Plattenepithelien ganz schwach gefärbt, dasjenige der meisten anderen Zellen, z. B. der Nierenepithelien, blassrosa bis violett, das der multinukleären Leukocyten gar nicht oder schwach gefärbt, den meistens schmalen Protoplasmarand der einkörnigen Leukocyten (Lymphocyten oder Plasmazellen?) roth. Die Kerne erscheinen blau, von verschiedener Grösse, central oder excentrisch. Bei den Nierenepithelien ist der Kern bläschenförmig, central mit einem oder mehreren roth gefärbten Kernkörperchen, die einkernigen Leukocyten zeigen einen grossen central oder excentrisch gelegenen Kern mit einem rothen Kernkörperchen. Die Granulirung des Protoplasmas und die Chromatinstruktur der Kerne ist im Harnsediment nicht wohl zu erkennen. Bakterien färben sich mit PAPPENHEIM's Mischung intensiv roth.

Um freies oder in Zellen eingeschlossenes Fett (Fettkörnchen, verfettete Zellen) zu erkennen, kann man das Sediment ohne weiteres oder nach der vorher beschriebenen Vorbereitung mit $^1/_2$%iger Osmiumsäurelösung behandeln, wobei alles Fett schwarz erscheint, oder mit Sudan oder Scharlachroth, welche es roth färben.

Zur Konservirung von Harnsedimenten behufs späterer Untersuchung oder Demonstration kann man das in der vorher angegebenen Weise mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Sediment oder Centrifugat mit verdünnter Formollösung versetzen, am besten nach R. ROHNSTEIN so, dass man von einer 2%igen Formollösung etwa das Doppelte bis Dreifache der Sedimentmenge zufügt, gut durchschüttelt und absitzen lässt. Dann giesst man ungefähr die Hälfte der Flüssigkeit ab, schüttelt den Rest gut durch und ersetzt die abgegossene Menge von Flüssigkeit durch ebensoviel von folgender Mischung: Formol 20, Glycerin 125, Aqua dest. 200. In dieser Mischung hält sich das Material lange Zeit.

Eine andere empfehlenswerthe Methode, wobei die Präparate zugleich in haltbarer Weise gefärbt werden, ist die folgende von MARTIN COHN angegebene. Das Präparat wird auf sorgfältig gereinigte Deckgläschen gestrichen, leicht an der Luft getrocknet und das Deckglas mit dem angetrockneten Präparat für etwa 10 Minuten in eine Schale mit 10%iger Formollösung gethan, ohne zu schütteln, weil dadurch leicht das Sediment heruntergespült werden könnte. Nach kurzem Auswaschen in Wasser wird das Deckglas — behufs Fettfärbung — in eine koncentrirte Lösung von Sudanfarbstoff in 70%igem Alkohol für etwa 10 Minuten gelegt und $^1/_2$—1 Minute in 70%igem Alkohol abgespült. Ausserdem kann man zur Erkennung der Kernverhältnisse mit Hämatoxylin oder Alauncochenille färben und in Wasser abspülen. Das Präparat wird in Glycerin eingeschlossen und durch Anwendung eines luftdicht schliessenden Kitts vor Verdunstung geschützt.

Litteratur: SENATOR (VIRCH. Arch., Bd. 131). ROHNSTEIN (Fort. Med., 1902), COHN, Zeit. klin. Med., Bd. 38, 1899). *Senator*, Berlin.

Harze siehe Oele, pflanzliche.

Hausenblase. Unter der Bezeichnung Hausenblase kommt die innere Haut der Schwimmblase der Fische aus der Ordnung der Knorpel-

ganoiden in getrocknetem Zustande in den Handel. Hausenblase geht durch Kochen in Leim über. Sie dient zur Herstellung von Gelées, des sogenannten englischen Pflasters u. s. w.

In der mikroskopischen Technik hat sich Klebs der Hausenblase als Medium zur Untersuchung bedient; er mischt eine koncentrirte Lösung mit dem halben Volumen Glycerin. Behrens löst 25 Grm. in 100 Ccm. heissen Kampherwassers, mischt mit 100 Ccm. Glycerin, kocht auf und filtrirt durch feuchte Glaswolle. Debes macht eine Lösung von 3 Grm. Hausenblase in 75 Grm. Eisessig, nimmt von dieser Lösung 5 Grm. und verdünnt sie mit einer Mischung von 3 Grm. absoluten Aethylalkohols und 1,5 Grm. Isobutylalkohols. Die Flüssigkeit dient zur Fixation von Diatomaceen.

Litteratur: Debes (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), Klebs (Arch. mikr. Anat., Bd. 5. 1869). *Mosse*, Berlin.

Haut. Epithelfasern. Zum Studium der Protoplasmafasern in den Epithelzellen, sowie der ausserhalb der Zellen verlaufenden sogenannten Herxheimer'schen spiraligen Fasern, deren Deutung als Protoplasmafasern jetzt von den meisten Autoren anerkannt wird, dienen folgende Färbemethoden:

Zunächst die Weigert'sche Färbung, mittels welcher es Herxheimer [1]) gelang, die nach ihm benannten Fasern zuerst zu finden, und für deren Ausführung er folgende Regeln aufstellt: 1. Härtung in Alkohol; 2. Entcelloidiniren mittels Alkohol und Aether aa.; 3. Einlegen der Schnitte für 2 Stunden in Alkohol absol.; 4. Färbung auf dem Objektträger für 5 bis 10 Minuten in gesättigter Lösung von Anilinwassergentianaviolett; 5. 1 Min. in Lugol'sche Lösung; 6. Entfärbung in Anilinxylol, bis deutliche tiefblaue Färbung eintritt; 7. Xylol, Kanadabalsam.

Eine Modification dieser Methode Herxheimer's siehe unter Keratohyalin.

Kromayer [2—5]) giebt folgendes Verfahren an: 1. Paraffineinbettung der in absolutem Alkohol gehärteten Stücke. Messer haarscharf, schräg zum Messerschlitten gestellt. Einstellung des Präparats so, dass die Epidermis zuerst getroffen wird. Schnitte von 0,002—0,003 Mm. in öfters zu wechselndes Xylol gebracht, dann in absoluten Alkohol, der ebenfalls einmal zu wechseln ist; dann Hinzufügung von Wasser zum Alkohol, bis er nur wenige Procent der Mischung beträgt; dann Färbung auf dem Objektträger. 2. Färbung 5 Minuten mit einer Lösung von gleichen Theilen koncentrirten Anilinwassers und koncentrirter wässeriger Lösung von Methylviolett. 3. Bei dünnen Schnitten 1 Sekunde Jodjodkalilösung, bei dickeren Schnitten Kontrole durch die Lupe. 4. Anilin 1 zu Xylol 2, eventuell bei dünneren Schnitten stärkere Verdünnung des Anilins mit Xylol. Kontrolle der Entfärbung unter dem Mikroskop. Im richtigen Moment Unterbrechung der Entfärbung durch Uebergiessen der Schnitte mit Xylol. Vorfärbung mit Alaunkarmin.

Ausserdem beschrieb Kromayer noch folgende Modifikationen dieses Verfahrens: 1. Färbung mit Bismarckbraun (oder Safranin); 2. kurze Färbung mit Methylviolettanilinwasser; 3. Abspülen im Wasser; 4. Abtrocknen; 5. Uebergiessen mit Anilinxylol (2:3); 6. Xylol, Balsam, oder 1. und 2. wie vorher; 3. kurze Jodirung (Jodkalilösung); 4. Ausziehen mit Aq. dest. 2, Alkohol absol. 1—2; 5. Trocknen des Schnittes mit Fliesspapier; 6. Montirung in Paraffin. liquidum.

Unna [6]) benutzt folgende Methoden, welche neben der Färbung der Epithelfasern auch die übrigen protoplasmatischen Substanzen gut färben:

a) Die Wasserblauorceïnmethode: 1. Schnitte auf 10 Minuten in eine 1%ige, wässerige neutrale Lösung von Wasserblau (Alkaliblau); 2. Abspülen in Wasser; 3. 5—10 Minuten in neutrale, spirituöse (1%ige) Orceïnlösung (Grübler); 4. Alkohol absolutus; 5. Oel, Balsam.

b) Hämatoxylinpikrinmethode.* 1. Schnitte für eine halbe Stunde bis eine Nacht in Hämatoxylin von Delafield oder Mayer oder Unna (Hämatoxylin 0,5, Spiritus 10,0. Sol. H_2O_2 10,0, Glycerin 10, Soda 0,1, Alaun 2,5. Aq. ad. 100); 2. leichte Abspülung in Wasser, 3. ½ Minute gesättigte wässerige Pikrinlösung; 4. 20—30 Sekunden in ½%ige spirituöse Pikrinsäurelösung zur Entwässerung; 5. Alkohol absolutus zur Abspülung des überflüssigen Pikrins; 6. Oel, Balsam.

c) Hämatoxylinorceïnmethode: 1. Schnitte eine Nacht in der Hämatoxylinflotte; 2. nach Abspülen im Wasser 10—20 Minuten in der spirituösen neutralen Orceïnlösung; 3. Alkohol abs. Oel, Balsam.

d) Jodmethode, 1. Färbung von Celloidinschnitten in Gentiana 1,5. Alaun 10. Aq. dest. 100, eine Stunde im Schälchen; 2. nach Abspülen in Wasser Jodirung in einem Schälchen mit 5%iger Jodkalilösung unter Zusatz eines Jodkrystalls; 3. Schnitte auf den Objektträger gebracht, leicht abgetrocknet; 4. Ueberspülung mit Anilin 10, Xylol 40 (½—1 Minute); 5. Auftropfen von Anilinxylol aa. 10,0 (½ Minute); 6. Xylol, Balsam.

Vorfärbung mit Alkoholkarmin nach Mayer oder Hämatoxylin.

Das Keratohyalin. Das Keratohyalin — von Ranvier [7]) jetzt körniges Eleïdin genannt —, welches sich in den Zellen der Körnerschicht in Form feinster Körnchen vorfindet, ist in starken Mineralsäuren löslich und in Pepsinsalzsäure verdaulich, es löst sich nicht in schwachen Lösungen von Alkalien, sowie in kohlensauren Alkalien in der Kälte. Die Körnchen quellen unter Abrundung in verdünnten alkalischen Lösungen auf und treten besonders scharf durch Ammoniak hervor. Nach Ranvier lösen sie sich durch 10stündige Maceration der Schnitte in 10%iger Natriumchloridlösung zu einer diffusen, mit Pikrokarmin sich roth färbenden Substanz auf. Sie werden als eine Begleiterscheinung des Verhornungsprocesses beobachtet (Unna). Ausser mit Ranvier's Pikrokarmin werden sie mit Hämatoxylin, nach Sorrentino besonders nach vorheriger Fixation in Pikroschwefelsäure mit der Pararosanilin-Jodmethode Unna's [8]), mit der van Gieson'schen Methode (Hämateïnsäurefuchsin und Pikrinmethode), mit der Wasserblau-Orceïnmethode Unna's, mit der Weigert'schen und Gram'schen Methode zur Darstellung gebracht.**

Zum Ersatz der beiden letztgenannten Methoden empfiehlt Herxheimer folgendes Färbeverfahren: Einlegen von Schnitten, die 24 Stunden in absolutem Alkohol gelegen haben, in Anilinwassermethylviolett (½ Stunde lang). Entfärbung mit käuflichem 2%igen Mentholvasogen (von Pierson in Hamburg. Abtupfen damit ¼—½ Stunde lang. Dann Xylol, Kanadabalsam. Unna benützt das Kamphervasogen als Entfärbungs- und Entwässerungsmittel für Schnitte, die in polychromer Methylenblaulösung gefärbt und mittels rothen Blutlaugensalzes gebeizt sind.

Andere von Unna [9]) angegebene Methoden sind:

* Aehnlich ist die von Schütz (Arch. f. Derm. u. Syphilis, Bd. 36, pag. 111) angegebene Hämatoxylin-Pikrin-Eisenmethode: 0,01 dicke entcelloidinirte Schnitte von Alkoholpräparaten kommen für 24—48 Stunden in eine 10%ige wässerige Lösung von Extr. Ligni Campechian. pur. Man wäscht sie in destillirtem Wasser aus, überträgt sie für 5—10 Minuten in eine gesättigte, wässerige Pikrinsäurelösung, wäscht wieder in Wasser aus und lässt sie 24 Stunden in frischer 1%iger wässeriger Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul nachdunkeln. Auswaschen, Entwässern in Anilin oder Alkohol, Kanadabalsam, Oelimmersion, Kondensor, enge Blende. Die feinen Details sind nicht länger als 3 Wochen sichtbar.

** Nach Rabl (Arch. f. Mikroskop. Anatomie, Bd. 48, pag. 430) besitzt das Keratohyalin nicht überall die gleiche chemische Beschaffenheit. Die eine Art desselben lässt sich mit Hämatoxylin färben, die andere nicht; diese letztere lässt sich bei Nachbehandlung mit sauren Anilinfarben zur Anschauung bringen, und zwar sind dies die Körner, die in der Marksubstanz und inneren Wurzelscheide der Haare vorkommen.

1. Hämateïnfärbungen: *a)* Ueberfärbung mit Hämatoxylin; *b)* Einlegen der Schnitte für 10 Sekunden in $^1/_2$ ‰ige Kal. permangan.-Lösung; *c)* Entfärben in Alkohol.

2. *a)* Wie vorher; *b)* anstatt Kal. permangan.-Lösung 33 %iges Eisenvitriol; *c)* Alkohol.

3. *a)* Wie vorher; *b)* 20 Minuten in 10 %iger Lösung von gelbem Blutlaugensalz; *c)* Entfärbung in salzsaurem Alkohol.

4. Vorfärben in einer starken Hämateïnlösung, Nachfärbung mit Safranin. Kerne roth, Keratohyalin blau.

Das Eleïdin. Das Eleïdin — Ranvier's huile essencielle — ist nach Buzzi's Untersuchungen[10]) eine in topographischer, morphologischer und chemischer Hinsicht von dem Keratohyalin verschiedene Substanz, welche sich in Form von Tröpfchen, Tropfen, Flatschen und Bändchen in der basalen Hornschicht vorfindet und auch die basale Hornschicht eines jeden Schweissporus durch die ganze Hornschicht hindurch begleitet. Ueber die Entstehung des Eleïdins ist nichts Bestimmtes bekannt. Buzzi stellt allerdings in neuerer Zeit die Frage zur Diskussion, ob es trotz seiner sonstigen Verschiedenheit doch nicht in letzter Instanz von dem Keratohyalin abstammt.* Seine tinktorielle Darstellung geschieht nach folgenden Methoden:

1. Nach Ranvier[7]): *a)* Härtung 24 Stunden in 26 %igem Alkohol, Trockenschneiden; *b)* Färbung auf dem Objektträger in ammoniakalischem Pikrokarmin (1:1000); *c)* Auswaschen in Wasser; *d)* Einschluss in neutralem Glycerin. Eleïdin gelbroth.

2. Nach Buzzi[10, 11]): die Färbung gelingt nach seinen älteren Angaben mit Alkanna, Osmiumsäure, spritlöslichem Nigrosin, sulfosaurem Nigrosin. Schneiden ohne Einbettung. Differenzirung in Alkohol absolutus, Einschluss in Glycerin.

Neuere Methoden Buzzi's[13]):

1. Das Eleïdin lässt sich nicht allein an frischen oder nur kurze Zeit in Alkohol konservirten Hautstücken, sondern auch in solchen, die mehrere Jahre in Alkohol gelegen haben, nachweisen.

2. Das Kongoroth in schwachen Lösungen ist ein vorzügliches Färbemittel; *a)* Färben dünner Hautschnitte einige Minuten lang in einem Uhrschälchen voll Wasser mit 2—3 Tropfen der 1 %igen wässerigen Kongorothlözung; *b)* Abspülen in Wasser. Schnitt diffus, schwach rosaroth, Eleïdin intensiv roth.

Bei Behandlung der Schnitte mit schwachen Säuren geht die rothe in eine blaue Farbe über und bleibt so, bis die Säure neutralisirt wird. Zur Doppelfärbung von mit Kongoroth behandelten Schnitten eignet sich Hämatoxylin. Eleïdin roth, Keratohyalin blau.

3. Indophenol, Orceïn, namentlich aber Orseilleextrakt, sowie auch andere als nach der Ranvier'schen Vorschrift bereitete Pikrokarminlösungen färben das Eleïdin.

Zur Konservirung werden die gefärbten Schnitte (auch solche nach Kongorothfärbung) in Alkohol entwässert, dann Nelkenöl und Kanadabalsam.

3. Nach Dreysel und Oppler[14]):

I. *a)* Härtung der Hautstücke 2—3 Tage in absolutem Alkohol. Einbringung in ein Gemisch von Alkohol-Aether aa. für 24 Stunden, dann dünnes, später dickes Celloidin. Oberflächliches Trocknen der eingebetteten Stücke an der Luft, Aufbewahrung in 80 %igem Spiritus. Schnittstärke 0,02 bis 0,03 Mm. Trocken schneiden. Die trockenen Schnitte kommen entweder auf den bereits mit der Farblösung bespritzten Objektträger oder in ein Farb-

---

* Rabl (l. c.) hält die Eleïdintropfen für in Auflösnng begriffene Keratohyalinkörner und schlägt dafür den Namen Keratoeleïdin vor.

schälchen; *b)* Färbung in: Karmin, Liquor Ammonii caustici, gesättigte wässerige Pikrinsäure aa. 1,0, Aq. dest. 200,0. Vor Verwendung der Farblösung lässt man das Ammoniak abdampfen, entweder im Wasserbade oder in offener Schale. Sorgfältiges Filtriren der Lösung vor dem Gebrauch. Färbung $^1/_2$—6 Minuten; *c)* Glycerin.

Zur Herstellung von Dauerpräparaten: Einlegen der Schnitte aus der Farbe für kurze Zeit in $^1/_2$%igen pikrinsauren Alkohol, dann Alkohol absolutus, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Zur Doppelfärbung: *a)* Vorfärbung 1 Minute mit Pikroammoniakkarmin. *b)* Reichliches Wasserspülen zur Entfernung der Pikrinsäure. *c)* Färbung in stark verdünnter Alaunhämatoxylinlösung 24 Stunden. *d)* Abspülen in Wasser, Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam.

Die Färbung gelingt nicht immer, Hauptbedingung: dünne Schnitte. Besser Durchfärbung mit wässeriger Thionin- oder Methylenblaulösung.

II. Färbung mit wasserlöslichem Nigrosin (Grübler): *a)* Färbung 1—2 Minuten in einem Schälchen mit Wasser, dem 5—6 Tropfen einer 1%igen wässerigen Nigrosinlösung zugesetzt sind. *b)* Doppelte Abspülung der Schnitte in Alkohol, dann Nelkenöl, Kanadabalsam.

4. Nach Frickenhaus [16]):

I. *a)* Frische Haut trocken geschnitten nach Einklemmung umgebogener Haut in zwei kleine Holzbrettchen oder Korkstückchen. *b)* Die Färbung schliesst sich sofort dem Schneiden an. *c)* Koncentration der Farblösung 1:1000 Wasser. Stammlösungen: Wasserblau 1, Wasser 1000 oder Alkaliblau 1,0, Wasser 20,0, Spiritus 10,0, ungefähr je 1 Tropfen dieser Lösung auf je 10 Tropfen Wasser. *d)* Dauer der Färbung 2—5—10 Minuten, eventuell Nachfärben in Eosinlösung. *e)* Alkohol, Bergamottöl, Kanadabalsam.

II. Doppelfärbung:

A. Mit Darstellung des unverhornten Epithels: 1. Wasserblau, beziehungsweise Alkaliblau 1:100, Wasser 2—5—10 Minuten. 2. Wasser. 3. Pikrocochenille (Unna, Grübler) $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde. 4. Wasser 12—24 Stunden. 5. Schwach saurer Alkohol 1 Tropfen zur Schale Alkohol (80%), kurz. 6. Wasser. 7. Alkohol absol. 8. Bergamottöl. 9. Kanadabalsam.

B. Mit Darstellung des Keratohyalins und des unverhornten Epithels: 1. Wasserblau, beziehungsweise Alkaliblau (1:1000) 2—10 Minuten. 2. Wasser. 3. Alaunhämatoxylin + H_2O_2 $^1/_2$ Stunde.* 4. Wasser 12—24 Stunden. 5. Entfärben in schwach angesäuertem Wasser und einigen Tropfen Glycerin oder in schwach angesäuertem Alkohol (s. vorher). 6. Wasser, Alkohol absolut., Bergamottöl, Kanadabalsam.

Pigment. Zum Studium der Lage des Pigments eignen sich sowohl ungefärbte Schnitte als auch Kontrastfärbungen mit Boraxkarmin und Alaunkarmin. Zur tinktoriellen Darstellung des Hämosiderins in Schnitten mit Hautblutungen eignet sich nach Unna die Färbung der Schnitte mit basischen Farben, am besten Karbolfuchsin und nachfolgende Entfärbung mit koncentrirter Tanninlösung, bis nur noch leichte Kernfärbung vorhanden ist. Alsdann ist das Hämosiderin scharf roth gefärbt. Dasselbe wird erzielt bei Färbung mit polychromer Methylenblaulösung und Tanninentfärbung. Das Hämosiderin erscheint tief blauschwarz, Kerne rein blau. Melaninhaltigen Pigmenten wird bei der Karbolfuchsinmethode alle Farbe durch das Tannin entzogen, während bei der Methylenblaumethode das Melanin hellgrün gefärbt bleibt und so von dem blauschwarz gefärbten Hämosiderin differenzirt werden kann. Eine weitere Differenzirungsmöglichkeit der Mela-

* Hämatoxylin 1,0 gelöst in Spiritus 95% 100. Alaun 1,0 gelöst in Wasser 300 und Sol. H_2O_2 15 (neutralisirt). Beide Lösungen zu mischen.
Die Solut. H_2O_2 enthält 10% H_2O_2 nach Volumen und 6% H_2O_2 nach Gewicht.

nine von den Hämosiderinen liegt in der von mir zuerst nachgewiesenen, von Barlow, Dreysel bestätigten Fähigkeit der meisten melaninhaltigen Pigmente, Osmiumsäure zu reduciren. Das melaninhaltige Pigment verliert im Gegensatz zum Fett diese Fähigkeit, wenn es mit Chromsäure vorbehandelt wird. Hämosiderine geben nie die Osmiumreduktion (Dreysel).

Der Eisengehalt des Pigments wird in Schnitten nachgewiesen: *a)* Durch Ferrocyankalium und Salzsäure. Einlegen der Schnitte für einige Minuten in eine 2%ige wässerige Ferrocyankalilösung, dann in Glycerin, dem ½% Salzsäure zugesetzt ist. Hämosiderin: blau, eventuell nach Auswaschen der Schnitte Nachfärbung mit Alaunkarmin. Zur Herstellung von Dauerpräparaten setzt man auch der gewöhnlichen Lithionkarminlösung einige Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzu, entfärbt mit salzsaurem Glycerin oder salzsäurehaltigem Alkohol (1 Theil HCl auf 100 Theile 70%igen Alkohols), dann Auswaschen in Wasser, Alkohol absol., Kanadabalsam. *b)* Durch Schwefelammonium. Einlegen der Schnitte in eine frisch bereitete Schwefelammonlösung, 5—20 Minuten lang, bis sie eine dunkelgrüne oder schwarzgrüne Farbe angenommen haben, dann rasches Abspülen in Wasser, Untersuchung in schwach schwefelammoniumhaltigem Glycerin. Eisen: kleine schwarze oder schwarzgrüne Pigmente. Eventuell kann man die Schnitte aus dem Wasser in Alkohol, Nelkenöl, Kanadabalsam bringen.

Das gelbe Pigment in Xanthomen ist fetthaltig (Lipochrom) und wird durch Osmiumsäure, beziehungsweise Flemming'sche Lösung, durch Sudan III und Alkannatinktur zur Darstellung gebracht.

Zum Studium des Stromas der Pigmentzellen, eventuell bei massenhafter Anhäufung von Pigment zur Aufklärung des Gesichtsfeldes ist es zuweilen nothwendig, die Schnitte zu bleichen, d. h. ihnen den Farbstoff zu entziehen.

Dasselbe geschieht entweder nach Unna [16]) mit Wasserstoffsuperoxyd oder mit Chlorwasser oder nach der von Zimmermann empfohlenen Mayerschen Methode [17]): In ein 10 Ccm. haltiges Gläschen, welches mit kleinen Kali chloricum-Krystallen angefüllt ist, wird 96%iger Alkohol, dem einige Tropfen koncentrirter Salzsäure zugefügt werden, gefüllt. In diese Flüssigkeit kommen die frischen Hautstücke für 24 Stunden, hierauf in 96%igen Alkohol, der häufig gewechselt werden muss, dann Färbung, wie gewöhnlich.*

Nägel. Nach Heller [18]) giebt nur die Herstellung von Schnitten durch den Nagel, die Nagelwälle und das Nagelbett oder die Nagelwurzel verwerthbare Resultate. Eine getrennte Untersuchung der Nagelplatte und der übrigen Theile des Nagels genügt nicht. Da eine Trennung des Nagelbettes vom Periost nicht möglich ist, so muss man die Schnitte auch durch die Phalanx legen. Seine Methodik ist folgende: 1. Einlegen von den durch Formalininjektionen konservirten Leichen entnommenen Nagelphalangen für einige Tage in Müller'scher Flüssigkeit, um die Blutkörperchen in den Gefässen zu konserviren. 2. Nach der Auswässerung Entkalkung in Salpetersäure (1:3—4) 4—6 Tage hindurch. 3. Nach erneuter Auswässerung Durchtränkung mit Alkohol, Aether, Celloidin in gewöhnlicher Weise.

Heller hält eine sehr sorgfältige Einbettung in Celloidin für erforderlich. Gewöhnlich lässt er die Phalanx 8—10 Tage in den Celloidinlösungen und entfernt vor dem Aufkleben auf dem Kork des Mikrotoms die volare Hälfte der Phalanx. Das Präparat wird in der Schnittrichtung, durch auf

* Jander (Zeit. wiss. Mikr., 1898) benützt zur Zerstörung dunkler Pigmente eine Lösung, bestehend aus 1%iger Chromsäurelösung 70, Salpetersäure 3, Wasser 200 Raumtheile. Fixirte und entwässerte Objekte werden aus dem starken Alkohol in Wasser zurückgebracht und auf 12—24—48 Stunden in die Lösung im Dunkeln gelegt. Dann Auswaschen mit Wasser und Entwässerung durch Alkohol gleichfalls im Dunkeln. Hierauf Färbung der Schnitte.

beiden Seiten aufgestellte Stecknadeln gestützt, gestellt. Um den Kork wird ein das Präparat um einige Millimeter überragender Papierrand gelegt, welcher mit Celloidin ausgegossen wird. Der Kork wird in ein Schälchen gelegt und durch andere Korkstücke vor dem Umfallen geschützt. Das Schälchen kommt in ein verschliessbares Gefäss, dessen Boden 2—3 Cm. hoch mit Alkohol bedeckt ist. Unter Alkoholdämpfen erstarrt die Celloidinmasse, so dass nach 24—48 Stunden die Einbringung in Alkohol erfolgen kann.

Die Färbung kann alsdann mit allen möglichen Färbemethoden geschehen. Im einzelnen werden folgende Färbeverfahren empfohlen:

1. Nach Guldberg zeigt, wenn man Schnitte von Nagel und Nagelmatrix mit verschiedenen Anilinfarben behandelt, z. B. mit Safranin, Methylenblau und Gentianaviolett, und nachher in salzsaurem Alkohol (Alkohol mit einigen Tropfen Salzsäure) entfärbt, die Nagelsubstanz eine grössere Affinität zu den Farbstoffen und wird sogar noch intensiver gefärbt als die Kerne der Matrixzellen. Dasselbe geschieht an Schnitten von Präparaten, die vorher mit Kali bichromicum oder Chromsäure oder mit einem Gemisch von Chromsäure, Osmiumsäure und Essigsäure behandelt worden und nachher in Alkohol gehärtet sind. Die Nagelsubstanz färbt sich immer stark braun, wenn sie längere Zeit in einer dünnen Lösung (1—2%) von Kali bichromicum oder Chromsäure (1/2%) gelegen hat. — Die Uebergangszone erscheint bei frischen, in Alkohol gehärteten, mit Eisessig behandelten, wie bei den in Kali bichromicum (1—2%) oder in Chromsäure (1/2%) und sodann in Alkohol gehärteten und in Glycerin aufgehellten Schnitten als eine bräunliche oder graubräunliche mehrschichtige Zellenlage.

2. Zander lässt zur Unterscheidung der Zellschichten des Nagelgrundes eine wässerige 1%ige Lösung von Methylorange (von Trommsdorf in Erfurt) eine halbe Stunde oder zweckmässig noch länger auf einen Schnitt einwirken. Dieser wird durchwegs gelb gefärbt, besonders intensiv aber die von Zander so genannte »Begrenzungsschicht«. Absoluter Alkohol entfärbt den Schnitt allmählich vollkommen. Am längsten wird die Farbe von der »Begrenzungsschicht« zurückgehalten. Kombinirt man mit dieser Tinktion noch eine reine Kernfärbung durch Alaunkarmin, so erhält man bei rechtzeitigem Abschluss der Extraktion durch Alkohol sehr instruktive Bilder. Während die Epidermiszellen die violette Alaunkarminfarbe annehmen, zeigen sich die Begrenzungsschicht mehr oder weniger intensiv gelb und die in ihr liegenden Kernreste bismarckbraun. Bequemer ist folgende Methode: Eine 1%ige wässerige Lösung von Methyleosin (Trommsdorf) färbt in wenigen Augenblicken dünne Schnitte prächtig roth. Die Zellkerne, in höherem Grade aber noch die Begrenzungsschicht, nehmen einen dunkleren Ton an. Ohne Schaden kann man die Präparate selbst Tage lang in der Lösung belassen; starker Alkohol extrahirt immer die Farbe bis zu einem gewissen Grade. Es besitzen die Körper der Epidermiszellen alsdann einen schwach röthlichen Hauch, die Kerne zeigen ein mattes, etwas ins Bläuliche spielendes Roth, die Begrenzungsschicht aber ist glänzend purpurroth gefärbt.

3. Schöne und lehrreiche Bilder liefert das von Weigert [19]) für die Untersuchung des Centralnervensystems und von Michelsohn [20]) für dermatologische Zwecke empfohlene Säurefuchsin: 1. Färbung mehrere Stunden in koncentrirter, wässeriger Lösung von Säurefuchsin; 2. Abspülen in Brunnenwasser, bis keine Farbwolken sich mehr bilden; 3. Entfärbung in alkolischer Kalihydratlösung; 4. Abspülen in destillirtem Wasser; 5. Alkohol, Bergamottöl, Kanadabalsam.

Emilio Echeverria [21]) empfiehlt direkte Einbettung des Nagels in Celloidin, Aufkleben auf Holz, das mit einem Einschnitt versehen ist, um die eine Ecke des Nagels hineinstecken zu können. Die Schnitte werden

entcelloidinirt, kommen: 1. fünf Minuten lang in eine 1%ige Eosinlösung. 2. Nach Auswaschen in Wasser 1 Minute in Gentiana-Anilin. 3. Nach Auswaschen in Wasser 1 Minute lang in J K- und $H_2 O_2$-Lösung. 4. Werden mit Fliesspapier getrocknet und mit Pikroanilinöl entfärbt. 5. Xylol und Kanadabalsam. Gefärbt Zellkontouren und Bakterien.

Oder die Schnitte kommen für höchstens 10 Minuten in Gentiana-Alaunlösung, werden dann mit Wasser ausgewaschen, 1 Minute lang der J K- und $H_2 O_2$-Lösung ausgesetzt, getrocknet, mit Pikroanilinöl entfärbt, dann Xylol, Kanadabalsam.

Diese Methode ist für bakteriologische Untersuchungen vorzuziehen.

Haare. Jede Haarprobe soll zunächst nach Waldeyer, besonders wenn es sich um forensische Zwecke handelt, völlig ungereinigt und ohne alle Zusätze zuerst mit 30—40facher, dann mit 100—120facher und nach Bedürfniss mit 250—300facher, beziehungsweise noch stärkerer Vergrösserung untersucht werden. Dann setzt man demselben Haar destillirtes Wasser, beziehungsweise eine 0,6%ige Kochsalzlösung zu, analysirt unter Zuhilfenahme der nothwendigen chemischen Reagentien die Natur der etwaigen Verunreinigungen, reinigt dann die Haare vorsichtig durch Abpinseln oder Schütteln in Wasser, eventuell durch leichtes Abreiben mit Seidenpapier, durch Behandeln mit Ammoniak und Aether oder auch mit verdünnten Säuren (20%ige Salpetersäure, 10%ige Salzsäure oder 2—5%ige Essigsäure) und untersucht dann abermals in Wasser oder Glycerin. Zur Herstellung von Dauerpräparaten schliesst man solche Haare in Farrant'sche Lösung oder Glycerinagar ein oder umrandet Glycerinpräparate mit Dammarlack, Asphaltlack oder Kröniglack. Die Behandlung mit Säuren empfiehlt Waldeyer besonders für dunkle Haare, die dadurch ein wenig aufgehellt werden und deren Zeichnung bei Haaren mit enganliegenden Schuppen deutlicher hervortritt.

Die Faser und Rindenzellen des Haarschafts, welche ausschliesslich aus Hornsubstanz bestehen, zeichnen sich dadurch aus, dass sie auch bei tagelanger Einwirkung eines verdünnten Glycerinpepsinextrakts in der Wärme nicht gelöst werden. Zur Zerlegung des Haars in seine einzelnen Bestandtheile erwärmt man dasselbe vorsichtig in koncentrirter Schwefelsäure am besten im Uhrglas, wobei sich die Kutikularschuppen ablösen, die Rindenschicht und die Markschicht in ihre Bestandtheile zerfallen, oder kocht es in 30—33%iger Kalilauge, wodurch die Waldeyer'schen Hornfibrillen sichtbar werden, oder lässt das Haar tagelang in Kalilauge oder wochenlang in Ammoniak (Moleschott) verweilen, um es dann, sorgfältig zerzupft, in Wasser oder Glycerin zu untersuchen.

Von Nathusius bedient sich zur Gewinnung der Hornzellen gleichfalls des Ammoniaks, indem er die Haare in ein mit 10%igem Ammoniak gefülltes, mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehenes Glasfläschchen legt und dasselbe 48 Stunden lang in die Röhre eines mässig warmen Stubenkachelofens bringt. Ob die Einwirkung bereits genügend weit vorgeschritten ist, kann man durch einfaches Schütteln feststellen, indem die Haare zerfallen und sich in Flöckchen vertheilen. Untersucht wird ausser in Wasser in verdünnter Chlorcalciumlösung. Zusatz von Goldchlorid nach vorherigem Auswaschen und Zerzupfen macht die Bilder durch Erhöhung der Refraktion schärfer, doch heben auftretende Niederschläge und starke Schrumpfung diesen Vortheil bald auf. Durch Behandlung mit Goldchlorid werden die Hornzellen für gewisse Zeit auch gegen Einwirkung erhitzter Kalilauge resistent, nach einiger Zeit wirkt letztere jedoch auflösend.

Durch Kochen weisser Haare in Natronlauge lassen sich aus den Haarzellen Kerne isoliren, die lange dünne Fäden darstellen und keratoid verwandelt sind. (Kölliker.)

Tinktorielle Darstellung der Hornzellen erübrigt sich in den meisten Fällen. Empfohlen wird wässerige Methylgrünlösung, welche diese Zellen zwar leicht färbt, sie aber bald zur Schrumpfung bringt. Zur Färbung der Hornsubstanz eignen sich sonst alle Hornfärbemethoden, wie die van Gieson-sche (Keratin gelb), die Ehrlich'sche Triacidfärbung (Keratin roth). die Pikrinsäure (Keratin gelb) und andere.

Die Pigmentzellen, welche in den Rindenzellen dunkler Haare enthalten sind, müssen bei manchen Untersuchungen des Haarschafts ihres Farbstoffs beraubt werden, zu welchem Zweck das von Unna empfohlene Wasserstoffsuperoxyd, sowie das Chlorwasser sich eignen. Diese Mittel entfärben jedoch nur die Pigmentkörner, indem sie den Farbstoff zerstören (s. Pigment), lösen aber das in den Körnern enthaltene geformte Stroma nicht auf.

Will man sich vom Luftgehalte eines Haares überzeugen, so setzt man nach Waldeyer zum trocknen Haare Wasser hinzu; man sieht dann dasselbe in den Markkanal eindringen und die Luft verdrängen; betrachtet man ein so angefeuchtetes Haar, während es wieder trocknet, so kann man sich vom allmählichen Wiedereindringen der Luft überzeugen.

Zum Studium des Gesammthaars, beziehungsweise seiner Stellung in der Haut, härtet man die betreffenden Stücke am besten in Alkohol oder zunächst in Müller'sche Flüssigkeit und dann in Alkohol und bettet die gehärteten Stücke in Paraffin (Waldeyer) ein. Die mit dem Mikrotom hergestellten Schnitte werden entweder ungefärbt in Glycerin untersucht oder in Pikrokarmin, Hämatoxylin, Methylenblau, Safranin, Fuchsin gefärbt und dann nach vollständiger Entwässerung in bekannter Weise aufgehellt und konservirt. Auch eignen sich für diese Zwecke alle sonstigen bekannten Gewebsfärbungen der Haut.

Im einzelnen sind einige besondere Haarfärbungen empfohlen worden:

Zur Tinktion der inneren Wurzelscheide des Haares empfiehlt Unna das Jodmethylanilin[22]), das, an Alkoholpräparaten angewendet, beim Ausziehen durch Alkohol an den verhornten Zellen der Wurzelscheide in tiefblauer Farbe haften bleibt und nach Pikrokarminfärbung schöne Doppeltinktion zeigt.

Für Flemming's Färbung eignen sich Präparate, die in Kalium bichromicum vorgehärtet und in Alkohol nachgehärtet sind, doch auch reine Alkoholpräparate, nur dass an letzteren die Färbung der inneren Wurzelscheide weniger hell und leuchtend, mehr stahl- oder violettblau ausfällt. Die Schnitte werden einige Stunden bis 1 Tag lang in mittelstarkem Pikrokarmin, dann einige Stunden in mittelstarkem Grenacher'schen Hämatoxylin (Bereitung s. in Flemming, Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung. 1882. pag. 383) gefärbt und nach Waschung in Wasser nach Belieben in Balsam oder Glycerin eingelegt. Die Bindegewebsfibrillen erscheinen rosa bis roth, die Mukeln gelbröthlich, alle Zellkörper ähnlich, Zellkerne dunkelpurpurn bis violett. Die Hornsubstanz des Haares pikringelb (in allen Chrompräparaten grünlich), die eben verhornenden Zellen der Haarmatrix bräunlich, die innere Wurzelscheide, soweit sie verhornt ist, von einem brillanten Lichtblau. Die Doppelfärbung gelingt an Präparaten, die längere Zeit in Kalium bichromicum gelegen haben, nicht mehr so gut.

Nach Joseph und Loewenbach[23]) sind noch folgende Methoden empfehlenswerth, über welche ich eigene Erfahrungen nicht besitze:

1. Von Guenther[24]): *a)* Fixirung in Müller'scher Flüssigkeit, Härtung in Alkohol, Einbettung in Paraffin. Schneiden. *b)* Färbung 12 Stunden in verdünntem Böhmer'schen Hämatoxylin. *c)* Differenzirung in salzsaurem Alkohol, Auswaschen in ammoniakalischem, dann in reinem Wasser. *d)* Fär-

bung 6 Stunden in einem Uhrschälchen Wasser mit Zusatz von 3 Tropfen koncentrirter wässeriger Pikrinlösung und 8 Tropfen Eosinlösung, Auswaschen in 70%igem Alkohol. *c)* Alkohol, Xylol, Balsam.

Keratohyalin und unterster Theil der Besenhaare roth, Haare selbst gelb, Kutikula gelb, rothe Blutkörperchen orange, Kerne und Keratin blau.

2. Von NORRIS-SHAKESPEARE: *a)* Färbung 20 Minuten in zu gleichen Theilen zusammengesetzter, filtrirter Mischung von Karmin 2,0, Borax 8,0, Wasser 130,0 und Indigokarmin 8,0, Borax 8,0, Wasser 130,0. *b)* 20 Minuten in koncentrirter. wässeriger Oxalsäurelösung. *c)* 20 Minuten in Alkohol absolutus. *d)* Xylol, Balsam.

Aeussere Haarwurzelscheide roth, HENLE's Schicht hellgrün, HUXLEY's Schicht dunkelviolett, Kutikula grün, Markzellen roth.

Pflanzliche Parasiten. Zur Untersuchung der Morphologie der Dermatophyten des Favus, der Trichophytie, der Pityriasis versicolor empfiehlt sich nach BALZER Entfettung der Schuppen in Alkoholäther aa, Färbung in wässeriger oder alkoholischer Eosinlösung, Montirung in 40%iger Kalilauge oder in Chloroform-Kanadabalsam. Bessere Resultate gibt nach UNNA die BOECK'sche Methode[25]), bei welcher die mit Alkoholäther entfetteten Schuppen ½—1 Minute in eine aus 16 Theilen 5%iger Boraxlösung, 20 Theilen gesättigter, wässeriger Methylenblaulösung, 24 Theilen destillirten Wassers bestehende Farblösung gebracht, dann ½—1 Minute in eine schwache, wässerige, stets frisch herzustellende Resorcinlösung und dann für einige Minuten bis eine Stunde in Alkohol gelegt werden. Dann folgt vorsichtige Entfärbung der Epidermis mit Wasserstoffsuperoxyd, dann wieder kurze Zeit Alkohol, darauf Xylol, Xylolbalsam.

Für einfache Untersuchungen genügt auch Aufhellen der Schuppen oder Haare mit 30%iger Kalilauge, eventuell leichtes Erhitzen auf einem Objektträger, Bedecken mit einem Deckglas, Untersuchung.

Favus. Die mikroskopische Untersuchung der Favuspilze geschieht entweder an den Skutula, bezw. Haaren oder an Schnitten, welche von Reinkulturen der Pilze stammen oder an durch Biopsie gewonnenen Gewebsstücken.

Die Darstellung von Favuspräparaten der Skutula und Haare gelingt nach MALASSEZ[26]) durch: 1. 24stündiges Verweilen der Haare in Alkohol und Aether; 2. 12 Stunden in absolutem Alkohol; 3. 40%ige Kalilauge in der Kälte bis zur vollständigen Aufhellung; 4. Abwaschen in Wasser. Entfernung der überschüssigen Kalilauge durch eine saure Lösung von Kali aceticum; 5. Färbung mit Eosin; 6. Einschluss in Glycerin.

JAMES C. KELLOG[27]) empfiehlt folgende Methoden zur Färbung der Skutula: Vorbereitende Behandlung: Erweichung des stark ausgetrockneten Materials in warmem Wasser, dann in bekannter Weise Einschluss in Celloidin und Schneiden. Dann kommen die Schnitte noch einmal auf 10 Minuten in warmes Wasser oder in eine bis zur Erzeugung von Dämpfen erwärmte 2—5%ige Sodalösung, dann Abspülen in Wasser und Uebertragung in die Farblösung.

Zum Studium der lebendigen Hyphen und Sporen:

I. 1. Polychrome Methylenblaulösung 10 Minuten; 2. Abspülen im Wasser; 3. Abtrocknen auf dem Objektträger; 4. Entfärbung mit Anilinöl und 1‰ HCl; 5. Anilin, Xylol, Balsam.

Zum Studium auch der abgestorbenen Theile des Skutulums:

II. 1. Säurefuchsin-Tanninlösung nach UNNA 24 Stunden; 2. Abspülung mit angesäuertem Wasser, am besten auf dem Objektträger, Abtrocknung; 3. Polychrome Methylenblaulösung, einige Tropfen über der Flamme, bis Dämpfe aufsteigen, erwärmt, mit salzsaurem Wasser abgespült, wobei der Schnitt blau sein muss; 4. Abtrocknung des Schnittes, nochmals Säure-

fuchsin-Tanninlösung, wobei der Schnitt blauroth wird; 5. gründliche Abspülung auf dem Objektträger und Abtrocknung; 6. Anilinöl und 10% Tannin; 7. Anilin. Xylol. Balsam.

III. 1. Gentianaviolettlösung 5 Minuten; 2. Abspülen in Wasser; 3. Säurefuchsin-Tanninlösung 2 Minuten im Schälchen; 4. gründliche Auswaschung in Wasser; 5. auf dem Objektträger abtrocknen, 6. Anilinöl und 1% salzsaurem Anilin; 7. Anilin, Xylol, Balsam.*

Für die mikroskopische Untersuchung von Favuskulturen haben NEEBE und UNNA [28]) folgendes Verfahren angegeben: 1. Zerlegung einer ganzen Kultur in 1 Cm. breite Stücke; 2. Härten in absolutem Alkohol, Einbettung in Celloidin; 3. Anfertigung von 3 μ dicken Schnitten; 4. Einlegen der Schnitte in Alkoholäther, dann in Alkohol; 5. Antrocknen der Schnitte auf dem Objektträger; 6. Färben nach WEIGERT's Fibrinfärbemethode. Pilze: blauviolett, Agar entfärbt.

Anstatt Gentianaviolett kann man Fuchsin verwenden und dann anstatt mit Jodjodkaliumlösung mit einer verdünnten Lösung von Kaliumbichromat den Farbstoff auf dem Pilz fixiren.

Schliesslich ist folgendes Verfahren von SABRAZÈS [29]) zur Färbung von durch Biopsie der behaarten Kopfhaut entnommenen Skutula zu erwähnen: 1. Einlegen von in Alkohol fixirten Stücken in toto in Pikrokarmin oder Alaunkarmin, Einschluss in Paraffin, Serienschnitte; 2. modificirte WEIGERT'sche Färbung (halbstündiges Verweilen der Objektträger in Anilinwassergentianaviolettlösung).

Der Favuspilz entfärbt sich nach GRAM sowohl im Skutulum wie in Kulturschnitten.

Trichophytie. Ausser den bereits am Anfang dieses Kapitels genannten Untersuchungsmethoden BALZER's und BOECK's sind folgende specielle Färbungsmethoden angegeben:

1. Nach MALCOLM MORRIS (M. f. pr. Derm., Bd. 23, pag. 389) wird das zu untersuchende Haar einige Sekunden zur Entfernung des überflüssigen Fetts in Aether gewaschen. Dann kommt es in die Farblösung: Anilinwasser 30 Theile, 5%ige alkoholische (70% Alkohol) Gentianaviolettlösung 10 Theile, darin bleibt es 5 Minuten bis 1 Stunde (zur Darstellung der grosssporigen Pilze ist letztere Zeit erforderlich, ausserdem muss die Lösung 5 Minuten über einer Spiritusflamme erhitzt werden). Trocknen mit Fliesspapier, dann 1—2 Minuten in eine Lösung von reinem Jod und Jodkalium in Wasser. Trocknen. Entfärben 10—15 Minuten in Anilinöl oder in Anilinöl + 2 bis 4 gtt. HNO_3. Aufhellen einige Sekunden in reinem Anilin; Xylol. Kanadabalsam. Statt obiger Farblösung kann man auch eine Gentianaviolettlösung. 5% in 70% Alkohol, oder eine 5%ige wässerige Fuchsinlösung mit etwas Alkohol oder eine 2%ige Lösung von Karbolfuchsin nehmen.

2. Nach H. G. ADAMSOHN (The Brit. Journ. of Derm., Bd. 7, 1895). Vorbehandlung mit 5—10%iger Kali causticum-Lösung 10—30 Minuten lang. Dann Abspülen mit 15%igem Alkohol. Dann Trocknen und, falls Schuppen vorhanden sind, Fixiren durch Erwärmen über der Flamme. Hierauf wenig modificirte WEIGERT'sche Färbung.

Pityriasis versicolor. Die Färbung des Mikrosporon furfur gelingt in vivo, wenn man die erkrankten Hautstellen mit Methylenblau einpinselt. Die nach einer halben Stunde mechanisch entfernten Schuppen zeigen unter

---

* L. WÄLSCH (Arch. f. Derm. u. Syphilis, Bd. 31, pag. 49) färbt Skutula nach folgendem Verfahren: 1. Färbung 10—15 Minuten in einer Mischung von Anilinwasser 7 Theile, konc. alkohol. Gentianaviolettlösung 1 Theil. 2. In frisch bereiteter Mischung von H_2O_2 + 5%ige wässrige Jodkalilösung āā. 3 Minuten. 3. Entfärbung in 1% Salzsäureanilinmischung (2 bis 10 Stunden). 4. Alkohol, Originanumöl oder Xylol, Kanadabalsam. Vorfärbung von Mikrotomschnitten mit Pikrokarmin oder Pikrocochenille.

dem Mikroskop die Pilzelemente gefärbt. Im übrigen vergleiche den Anfang dieses Kapitels.

Erythrasma. Für Dauerpräparate des Mikrosporon minutissimum empfiehlt Balzer nach Maceration der Schuppen in Aether Färbung einige Stunden hindurch in Eosin oder in alkoholischer Lösung von Chinolinblau, Entfärbung und Einschluss in Kanadabalsam, der in viel Chloroform gelöst ist, eventuell auch Einschluss in Glycerin.

Aktinomykosis. Die beste Färbung sowohl der Kolben, Körner und Mycelfäden gelingt nach der Gram'schen Methode. Zur Tinktion der kolbigen Gebilde empfiehlt Babes[30]), verdächtigen Eiter oder zerdrückte Aktinomyceskörner schnell auf dem Deckglas zu trocknen, 24 Stunden mit Anilinsafranin (koncentrirte wässerige Safraninlösung mit $2^0/_0$ Anilinöl auf 60^0 C. erwärmt und warm filtrirt) zu färben. Dann Jodjodkaliumlösung, Alkohol, Nelkenöl.

Blastomykose. Die Hefepilze färben sich leicht nach Gram und Weigert. Zur Färbung der Parasiten in Schnitten benützte Buschke[31]) die Weigert'sche Tinktion, Nachfärbung mit Karmin; ferner die Russel'sche Färbung (Karbolfuchsin, Jodgrün).

Curtis[32]) färbt Schnitte mit alkalischem Methylenblau 10:1000 und entfärbt mit wässeriger Pyrogallussäurelösung 1:100.

Etwas umständlich, doch empfehlenswerth zur Darstellung der Hefezellen ist die Möller'sche Färbung (Centrbl. Bakt., Bd. 12): 1. Bestreichen des Deckglases und nach Zusatz von Jodjodkalilösung lufttrocken werden lassen; 2. Fixiren der Hefen durch Aufkochen in Glycerin; 3. Abspülen in Wasser; 4. Einlegen für 2—3 Stunden in eine $3^0/_0$ige Lösung von schwefelsaurem Eisenammoniak; 5. Abspülen in destillirtem Wasser; 6. Färben mindestens 30 Minuten in einer gesättigten Lösung von Hämatoxylin in Brunnenwasser; 7. Abspülen in destillirtem Wasser; 8. Entfärben 15 Sekunden bis 1 Minute in der Lösung unter 4 (zweckmässig noch zu verdünnen); 9. Abspülen in Wasser; 10. Einlegen in Laevulose oder in Kanadabalsam (Busse[33]).

Keloidakne. Secchi[34]) glaubt bei der Keloidakne Blastomyceten nach folgender Methode nachgewiesen zu haben: 1. Fixation der Schnitte in einer gesättigten Sublimatlösung mit Zusatz von $2^0/_0$ Kaliumbichromat, Einschluss in Celloidin, das vor der Tinktion mit Aetheralkohol aa entfernt wird; 2. nach einem Aufenthalt der Schnitte von fünf Minuten in Ehrlich'schem Gentianaviolett Lugol'sche Lösung, Alkohol; 3. dann Martinotti'sche Safraninlösung ($1^0/_0$ alkoholische Safraninlösung ein Theil, destillirtes Wasser zwei Theile); 4. $90^0/_0$iger Alkohol, dem $1^0/_{00}$ Chromsäure beigemischt war; 5. Absoluter Alkohol, Bergamottöl, Kanadabalsam.

Pelagatti[35]) giebt 8 verschiedene Methoden der Blastomycetenfärbung an, die er bei 6 pathologischen Objekten (Karcinom, Rhinosklerom, Epitheliom, Aknekeloid, Skrofuloderma, Condylomata acuminata) studirt hat:

I. Karbolfuchsin 5 Minuten, Wasser, polychromes Methylenblau 5 Minuten, Wasser, Alkohol, Oel, Balsam.

II. Polychromes Methylenblau 10 Minuten, Wasser, rothes Blutlaugensalz ($2^0/_0$) 5 Minuten, Wasser, Alkohol, Oel, Balsam.

III. Magentaroth $2^0/_0$ 5 Minuten, Wasser, Wasserblautanninlösung (nach Unna) 5 Minuten, sonst wie bei II.

IV. Wasserblautanninlösung 5 Minuten, Wasser, Karbolfuchsin 5 Minuten, Wasser, Alkohol mit 1 Jodkrystall auf das Schälchen 2 Minuten, Alkohol, Oel, Balsam.

V. Polychromes Methylenblau 10 Minuten, Wasser, Alkohol mit einem Jodkrystall aufs Schälchen 5 Minuten, sonst wie bei IV.

VI. Säurefuchsinlösung (2%) 10 Minuten, Wasser, gesättigte wässerige Lösung von Pikrinsäure 5 Minuten, gesättigte spirituöse Lösung von Pikrinsäure 3 Minuten, Alkohol, Oel, Balsam.

VII. Polychrome Methylenblaulösung 10 Minuten, Wasser, koncentrirte (33%) wässerige Tanninlösung, durch einige Körner Säurefuchsin portweinroth gefärbt 15 Minuten, Wasser, Alkohol, Oel, Balsam.

VIII. Starke Vorfärbung mit Hämatoxylin (Delafield), Wasser, Safraninlösung (2%) 10 Minuten, Wasser, koncentrirte wässerige Tanninlösung 5 Minuten, Wasser, Alkohol, Oel, Balsam.

Piedra nostras. Bei Färbung der Haarquerschnitte mit Unna's Methylenblaulösung fand Frau Dr. W. Trachsler [36]) die Pilzherde im metachromatischen Violett, während das Haar das Blau der Lösung festhält. Diese Reaktion unterscheidet die Pilzgattung der Piedra von der des Favus und Trychophytons, doch nehmen nicht alle Sporen die violette Farbe an.

Litteratur: [1]) Herxheimer (Arch. Dermat. 1889), [2]) Kromayer (Verh. deutsch. dermat. Ges. 1890/91), [3]) derselbe (Arch. Dermat. 1890), [4]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, [5]) derselbe (Dermat. Zeitschrift, 1897), [6]) Unna (Mon. prakt. Dermat., Bd. 19, 1884), [7]) Ranvier (Arch. de Physiol., Bd. 3, 1884), [8]) Unna (Dermat. Stud., Heft 4), [9]) derselbe (Mon. prakt. Dermat., Bd. 20, 1895), [10]) Buzzi (Mon. prakt. Dermat., Bd. 8, 1889), [11]) derselbe (ebenda, Bd. 7, 1888), [13]) derselbe (ebenda, Bd. 23, 1886), [14]) Dreysel & Oppler (Arch. Dermat., Bd. 30, 1895), [15]) Frickenhaus (Mon. prakt. Dermat., Bd. 23, 1896), [16]) Unna (Mon. prakt. Dermat., Bd. 8, 1889), [17]) Mayer (Arch. mikr. Anat., Bd. 41, 1893), [18]) Heller (Die Krankheiten der Nägel, Berlin 1900), [19]) Weigert (Centrbltt. med. Wiss., 1882), [20]) Michelsohn (Mon. prakt. Dermat., 1883), [21]) Echeverria (ebenda, Bd. 20, 1895), [22]) Unna (Arch. mikr. Anat., Bd. 12), [23]) Joseph & Loewenbach (Dermato-histologische Technik, 2. Aufl., Berlin 1900), [24]) Günther (Inaug. Diss., Berlin 1890), [25]) Boeck (Forhandl. Norske med. Selskab, Kristiania 1887), [26]) Malassez (vergl. Bodin [Ann. dermat., Bd. 5, 1894]), [27]) Kellog (Mon. prakt. Dermat. Bd. 21, 1895), [28]) Neebe u. Unna (Mon. prakt. Dermat., Bd. 16, 1893), [29]) Sabrazes (Ann. dermat., 1892), [30]) Babes (Virchow Arch., Bd. 105), [31]) Buschke (Verh. deutsch. dermat. Ges., 1899), [32]) Curtis (Ann. de l'Inst. Pasteur, 1896), [33]) Busse (Die Hefen als Krankheitserreger, Berlin 1897), [34]) Secchi (Mon. prakt. Derm., Bd. 23, 1896), [35]) Pelagatti (Giorn. malatt. ven., Bd. 6, 1897), [36]) Trachsler, Monatsh. f. prakt. Derm., Bd. 22, Nr. 1. Speciellere Litteratur für die dermatologische Färbetechnik bei Ledermann & Ratkowski (Die mikroskopische Technik im Dienste der Dermatologie, Wien 1894), dieselben (Arch. Dermat., Bd. 28, 31 u. 37, 1894 u. 96). Ledermann u. Blank (Die mikroskopische Technik etc., Berlin 1902, Sonderabdruck aus Derm. Ztschrft, Bd. 9), Joseph & Loewenbach (l. c.).

Ledermann, Berlin.

Hefe werden alle diejenigen Entwicklungsformen der Pilze genannt, bei denen fortgesetzt durch Sprossung, daher auch Sprosspilze genannt, ohne Hyphenbildung neue sporenartige ellipsoidische Gebilde entstehen. Während bei einzelnen die Zusammengehörigkeit mit höheren Pilzformen festgestellt ist, ist dies für die wichtigsten, hauptsächlich die alkoholische Gährung bedingenden Hefeformen (»geformte Fermente«) nicht gelungen (Saccharomyceten), so bei der Bierhefe, S. cerevisia, der Weinhefe, S. ellipsoideus. Für eine gewisse Selbständigkeit spricht hier die unter gewissen Bedingungen eintretende endogene Sporenbildung, die an die der Hemiasci erinnert.

Bei den meisten Formen ist Sporenbildung aus kräftig wachsendem Material jederzeit leicht zu erzielen. Ein üppiges Wachsthum erreicht man durch Ueberimpfen (»Auffrischen«) der Hefe (eventuell aus Hefegelatinereinkulturen, s. unten) in etwa 10 Ccm. sterilisirter Bierwürze (s. diese) etwa im »Pasteurkolben«, wo sie bei Zimmertemperatur einen Tag bleibt, dann wird abgegossen, frische Würze aufgefüllt und 24 Stunden bei 25° gähren gelassen. Der Bodensatz enthält dann zur Sporulation genügend kräftige Zellen, die auf feuchte Gypsblöcke (hergestellt mit Verbandgyps und Wasser in Blechkästchen durch Klopfen möglichst luftfrei gemacht) ausgesäet werden. Die Gypsblöcke stehen zur Hälfte in Wasser oder auch auf feuchtem Fliesspapier, mit Glasglocke bedeckt in Thermostaten von 25—30° und tritt unter Umständen etwa nach 20 Stunden (Bierhefe) Sporenbildung ein. Die Schnelligkeit der Bildung ebenso wie das Temperaturoptimum (gewöhnlich bei 19 und 25° probirt) sind wichtig zur systematischen Unterscheidung der Hefe, ebenso auch zur Trennung der Kultur- und wilden Rassen.

Zahlreiche hauptsächlich in ihrem physiologischen Verhalten verschiedene Rassen sind bekannt, über die zum Theil nur Gährungsversuche in einer Reihe sehr sinnvoller Apparate, wie den Pasteur'schen, Hansen'schen, Carlsbergskolben Auskunft geben können. Die Reinzucht der Hefen, die für das Gährungsgewerbe von grösster Wichtigkeit, geschieht im grossen in komplicirten Hefereinzuchtapparaten, im kleinen nach den in der Bakteriologie üblichen

Methoden auf Nährgelatine, am besten $5\frac{1}{2}\%$ Gelatine*, mit gehopfter (oder ungehopfter) Bierwürze (s. diese). Die zur Herstellung von Bakterienreinkulturen fast ausschliesslich gebräuchlichen Verdünnungsmethoden werden hier jedoch meist nur zur Feststellung des Keimgehalts der Flüssigkeiten benutzt, während im allgemeinen die direkte mikroskopische Aussonderung vorgezogen wird. Hefe wird mit Nährlösung (Würze) vermischt, in feinen Tropfen auf die untere Seite des Deckglases gespritzt und unter dem Mikroskop in feuchter Kammer die Tropfen ausgesucht, die nur eine Zelle enthalten, und bezeichnet. Am nächsten Tage haben sich die Zellen reichlich vermehrt und wird der Tropfen mit der Platinöse, dem ein Körnchen sterilisirter Gelatine anhaftet, abgehoben und auf Nährgelatine im Reagensrohr übertragen. — Oder Hefe wird in flüssiger Nährgelatine vertheilt, die auf dem Deckglas ausgebreitet wird. Dann werden die isolirt liegenden Zellen bezeichnet, am nächsten Tage die Stelle mit der Platinöse abgehoben und übertragen. — Zum Zählen der Hefe sind ähnliche Apparate wie die Blutzählapparate konstruirt worden.

Ausser 1. gehopfter und ungehopfter Bierwürze (s. d.), den üblichen Nährlösungen für Brauereien, kommen noch folgende mit oder ohne Gelatine in Betracht: 2. Weinmost, einheimischer oder konc. zu beziehen von Favara u. Figli, Mazarro del Vallo, Sicilien, aus weissen Trauben vor der Koncentration filtrirt 1:4 Wasser und etwas weinsaures Ammon (für Schimmelpilze das Doppelte Wasser) (Wortmann). 3. Hefewasser, 50—100 Grm. stärkefreie Presshefe mit 1 L. Wasser $\frac{1}{4}$ Stunde kochen und filtriren (Pasteur). 4. 10% Rohrzuckerlösung und 0.05% Weinsäure. 5. 100 Ccm. Wasser, Zucker 15 Grm., salpetersaures Ammoniak 1 Grm., saures phosphorsaures Kali 0.5 Grm., dreibasisch phosphorsaurer Kalk 0,05 Grm., schwefelsaure Magnesia 0,5 Grm. (A. Meyer) u. a.

Litteratur: Lindner (Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gährungsgewerben. Berlin, Parey, 1895), Jörgensen (Mikroorganismen der Gährungsindustrie. 3. Aufl., Berlin, Parey. 1892).

Von mikrochemisch leicht nachweisbaren Inhaltsstoffen sind Eiweiss (s. Eiweissstoffe in Pflanzenzellen), Glykogen (s. d.), Gerbstoffe erwähnenswerth, über Nukleïnsäure aus Hefe vergl. Zellchemie. Die Darstellung des Hefeinvertin s. Zucker in pflanzlichen Geweben.

Die Darstellung der Kerne der Hefe ist relativ schwierig. Fixirung mit koncentrirter wässeriger Sublimatlösung, sukcessive Alkohollösung. Deckglaspräparate hergestellt durch Verdunstung des Alkohols werden mit Heidenhain's Eisenhämatoxylin gefärbt (Eisenalaun 3 St., Auswaschen, Hämatoxylin 6—12 St., Eisenalaun 1—2 Tage) oder Gentianaviolett in Anilinwasser, auswaschen mit Wasser und Alkohol. Fixirung nach Rath 10—30 St. bei 25°; Färbung Flemming's 3 Farben.

Litteratur: Wager (Ann. Bot., Bd. 12, 1898). *Magnus*, Berlin.

Hefeinvertin, Darstellung desselben siehe Zucker in pflanzlichen Geweben.

Heizbarer Objekttisch siehe Lebendes Gewebe, Untersuchung desselben.

Helianthin, Syn. für Goldorange (Ludwigshafen), auch für Azogelb (Geigy). Masslow färbt Schnitte von Milz, die nach Kultschitzky fixirt ist, $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Stunde in Hämatoxylin, wäscht in destillirtem Wasser aus und färbt $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Stunde in mit Essigsäure angesäuerter $0{,}25\%$iger wässeriger Lösung von Rubin S, auswaschen in Wasser und $\frac{1}{4}$ Stunde lang nachfärben in mit Essigsäure angesäuerter wässeriger Lösung von Helianthin. Auswaschen in Alkohol, Bergamottöl, Balsam. Kerne blau, Hämoglobin roth, Protoplasma gelb.

Heliozoen siehe Protozoën.

---

* Auf 1 Liter Flüssigkeit 60 Grm. Gelatine quellen lassen bei 40—50°, Zusatz von etwas Hühnereiweiss und zugeschüttelt, gekocht bei 100°, bis Bruch eintritt.

Helvetiablau, Syn. für Methylblau (GEIGY).

Hemipteren siehe Arthropoden.

Herbst'sche Körperchen finden sich bei den Vögeln in der äusseren Haut, besonders in der Umgebung der Schwanz- und Schwungfedern, in der Schleimhaut der Kloake, Konjunktiva des Auges, am zahlreichsten in dem Periost der Vorderfläche der Tibia und in der Zunge, Gaumenhaut und Schnabelhaut der Wasservögel. Am meisten zur Untersuchung eignet sich der Gaumen und die Wachshaut des Entenschnabels, der Schnabel der Schnepfe und die Zunge des Spechts.

Neben HERBST'schen Körperchen finden sich an den meisten dieser Stellen auch GRANDRY'sche Körperchen, am zahlreichsten im Randsaum der Wachshaut und den Seitentheilen der Zunge der Ente.

Zur Fixation] eignet sich vor allem koncentrirtes Sublimat, HERMANN'sche oder ZENKER'sche Flüssigkeit und eine Mischung von 12 Theilen koncentrirten Sublimats und 2 Theilen 2%iger Osmiumsäure (SZYMONOWICZ).

Zur Färbung der Nerven benutzt man die Vergoldung (siehe Goldmethoden), und zwar am besten die RANVIER'sche Kochmethode oder die Methylenblaumethode. Im letzteren Fall kann man entweder vom Herzen oder der Karotis aus injiciren oder Schnitte auf dem Objektträger färben. Man mache die Schnitte von der Wachshaut recht dünn, da die Methylenblaulösung nicht tief eindringt und die Körperchen ziemlich dicht unter der Epidermis liegen. Nachfärbung der nach BETHE fixirten Präparate mit Alaunkarmin oder Bismarckbraun giebt prächtige Bilder.

Litteratur: MERKEL (Ueber die Endigungen der sensiblen Nerven in der Haut der Wirbelthiere. Rostock 1880), DOGIEL (Arch. Anat., 1891), LUDWIG FERDINAND, Prinz von Bayern (Sitz. Bay. Ak. Wiss., 1884), CARRIERE (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), SZYMONOWICZ (ebenda, Bd. 48, 1896).

Hermann'sche Flüssigkeit siehe Platinchlorid.

Herz. Zur Fixation der Herzmuskulatur eignet sich nach HEIDENHAIN die koncentrirte Sublimatlösung ganz vorzüglich. Die besten Färbungsresultate erhält man, wenn die Stücke 2—3 Tage in der Lösung liegen bleiben. SOLGER fixirt in schwacher FLEMMING'scher Lösung oder in 1%igem Palladiumchlorür, TEDESCHI in Alkohol oder in MÜLLER'sche Flüssigkeit (8 Tage), SCHWARZ in 10%igem Formol.

Das Herz kleiner Thiere kann man in toto fixiren, bei grösseren Thieren füllt man es mit Fixationslösung und legt dann in ein grösseres Quantum ein. oder man schneidet Papillarmuskeln oder Stücke der Wand heraus und steckt sie mit Igelstacheln auf.

Zur Färbung eignen sich besonders die von HEIDENHAIN beschriebenen Neutralfärbungen (siehe dort).

Als Macerationsflüssigkeiten für Herzmuskulatur empfehlen sich Kalilauge (32,5%), Holzessig (1:3 Wasser), Salicylsäure, Salpetersäure (20%).

Zur Darstellung der Zellgrenzen des Endokards spült man nach RANVIER die Innenfläche der Vorhöfe der Ventrikel flüchtig mit destillirtem Wasser ab und behandelt dann mit 0,2—0,3%iger Lösung von Silbernitrat. Bei kleinen Thieren kann man das Herz von den Venen aus mit letzterer Lösung durchspülen, Abwaschen mit destillirtem Wasser und Abtragen kleiner Stücke der Innenfläche mit der krummen Scheere.

Um das Endothel des Perikards zu imprägniren, bringt TONKOFF Stücke des Perikards in 0,05—0,1%ige Lösung von Silbernitrat für 1/2 Minute unter fortwährendem Umschütteln, dann wird in destillirtem Wasser bei Sonnenlicht reducirt, 24 Stunden in HOYER'schem Pikrokarmin gefärbt und in gleiche Theile Wasser und Glycerin eingelegt, worin das Endothel abgelöst werden kann.

Zur Färbung der Herznerven eignet sich besonders das Methylenblau. Smirnow injicirt beim Frosch eine Pravazspritze 1—4%iger Methylenblaulösung in das Gefässsystem. Nach ¼—½ Stunde öffnet er Brust- und Bauchhöhle und nach einer weiteren Stunde das Herz selbst und legt es in die Fixationslösung ein. (Vergl. auch den Artikel Methylenblaufärbung, vitale.)

Zur Färbung der Nerven des Perikards legt Pianese die frischen Stücke für 6—8 Stunden in sein Ameisensäure-Hämatoxylin ein. Man vermische 6 Ccm. einer koncentrirten alkoholischen Hämatoxylinlösung mit 50 Ccm. einer koncentrirten wässerigen Alaunlösung, lasse 8 Tage im Licht stehen und setze 20 Ccm. Ameisensäure und 5 Ccm. Glycerin zu. Nach der Färbung auswaschen in Wasser, Alkohol, Xylol, Balsam. Es färben sich auch die Grenzen der Endothelzellen.

Litteratur: Heidenhain (Anat. Anz., Bd. 20, 1901), Solger (ebenda, Bd. 18, 1900), Tedeschi (Atti R. Acc. fisiocritici, Bd. 9, 1895), Schwarz (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898), Smirnow (Kasan, 1891, Russisch), Pianese (Giorn. int. Sc. med. Napoli, Bd. 14, 1892), Tonkoff (Anat. Anz., Bd. 18, 1899), Ranvier (Technisches Lehrbuch).

Hessisch Gelb. Sekundärer Disazofarbstoff, der durch Kombination von Diamidostilbendisulfosäure mit Salicylsäure entsteht (Berlin, Elberfeld). Ockergelbes Pulver, das sich in Wasser mit gelbbrauner, in Schwefelsäure mit rothvioletter Farbe löst. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge roth, mit Salzsäure ensteht ein schwarzer Niederschlag.

Hessisch Purpur, dem vorigen sehr nahestehend, an Stelle der Salicylsäure mit Naphtylamin oder Naphtylaminsulfosäure kombinirt. (Berlin, Elberfeld.) Rothes oder braunes Pulver, das sich in Wasser mit rother Farbe, in Schwefelsäure mit blauer Farbe löst. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge mehr roth, mit Essigsäure oder Salzsäure entsteht ein blauschwarzer Niederschlag.

Heteropoden siehe Mollusken.

Hexapoden siehe Arthropoden.

Hirudineen siehe Würmer.

Hitze als Fixationsmittel. Die Eigenschaft vieler löslicher Eiweisskörper, durch Hitze aus ihrer Lösung in unlöslicher Form ausgeschieden, koagulirt zu werden, ist für sich allein in der Mikrotechnik nur in geringem Masse verwerthet worden. Die Gerinnungstemperatur der verschiedenen Eiweisskörper ist eine sehr verschiedene. Einigermassen konstant ist sie nur bei den Albuminen, hier schwankt sie zwischen 70 und 73°, bei den Globulinen dagegen schwankt sie zwischen 55° (Fibrinogen) und 93° (Globulin).

Man verwendet die Hitze als Fixationsmittel in der Form des heissen Wassers und lässt die Objekte nur kurze Zeit, wenige Sekunden oder Minuten darin. Sind die Objekte nicht zu gross, so werden sie in dieser Zeit in allen ihren Theilen die Temperatur des Wassers angenommen haben und die in ihnen enthaltenen koagulirbaren Eiweisskörper werden koagulirt sein. Man wird diese Methode da mit Vortheil anwenden, wo es auf ein momentanes Abtödten, die Fixation irgend eines physiologischen Zustandes, z. B. Kontraktionszustände von Muskelfasern ankommt. Was die Erhaltung der Elemente anlangt, so scheint die Methode in manchen Fällen recht brauchbare Resultate zu liefern.

Weit häufiger aber erscheint die Anwendung der Hitze dann indicirt, wenn es sich um Objekte mit schwer durchdringlicher Hülle handelt, und hier bildet die Hitze das wichtigste Fixationsmittel. Man kann einmal die Objekte wie oben in heisses Wasser bringen, oder aber man legt sie in eine heisse Fixationslösung ein. Es wird dann die Hitze das primär fixirende

Mittel sein, und in zweiter Linie wird dann erst das die Lösung darstellende Fixativ zur Wirkung kommen. In ausgedehnterem Masse wird von dieser Methode bei der mikrotechnischen Bearbeitung der Arthropoden Gebrauch gemacht. (Vergl. auch den Artikel Fixation.)

Hoden. Nur die Hoden von kleinen Thieren lassen sich mit Vortheil ganz und ohne Ablösung der Albuginea fixiren, schon bei Thieren von der Grösse einer Ratte oder eines Meerschweinchens wird man mit dieser Methode nicht mehr gute Erfolge haben. Das Zertheilen solcher grösserer Hoden vor der Fixation hat aber unleugbare Nachtheile, da auch bei der vorsichtigsten Dissektion doch das weiche Hodengewebe leicht gequetscht wird und aus der Schnittfläche hervorquillt. Man hat deshalb sich bemüht, die Hodenkanälchen in situ zu fixiren und dazu vor allem die interstitielle Injektion benutzt. Der Hoden wird vorsichtig bis auf die Albuginea freigelegt, die Kanüle einer Pravazspritze unter die letztere eingeführt und unter gelindem Druck 1—2 Ccm. der Fixationslösung injicirt. Man kann bei grösseren Hoden diese Procedur an drei bis vier Stellen wiederholen und das ganze Organ fixiren. Hat die Lösung einige Minuten eingewirkt, so kann man ohne Schaden die Albuginea abpräpariren (Regaud) oder den Hoden zerschneiden (Plato) und ihn dann in die Fixationslösung einlegen. Natürlich kann neben dieser interstitiellen oder subalbuginealen Injektion auch die Einführung der Fixationslösung von der Art. spermatica int. her erfolgen.

Von den Fixationsmitteln werden für den Hoden im allgemeinen die Osmiumgemische und vor allem das Flemming'sche und Hermann'sche bevorzugt (Germano, Benda, Drüner, Meves, Plato, Sabatier, Rawitz, Peter, Loisel und viele andere). Sie geben nach dem Urtheil der gewiegtesten Autoren immer noch die besten Resultate. (Ueber das Nähere vergl. Flemming'sche und Hermann'sche Flüssigkeit.) Es sind auch für diesen Zweck vielfach Modifikationen dieser beiden Fixationslösungen angegeben worden, vor allem Kombinationen mit Sublimat. Niessing verwendet ein Gemisch von 50 Ccm. konc. Sublimats, 25 Ccm. 10%igen Platinchlorids, 20 Ccm. 2%iger Osmiumsäure und 5 Ccm. Eisessig; Maximow zieht die Podwyssozky'sche Lösung vor (15 Ccm. 2%iger Chromsäure, 15 Ccm. 1%igen Sublimats, 8 Ccm. 2%iger Osmiumsäure und 12—15 Tropfen Eisessig). Um die ungleichmässige Fixation der einzelnen Gewebsschichten zu vermeiden, empfiehlt Eisen an Stelle des Osmiumtetroxyds das Osmiumchlorid in 0,1—0,5%iger Lösung oder noch mehr das Iridiumchlorid in 0,2—0,5%iger Lösung mit Zusatz von 1% Eisessig. Auch die vom Rath'sche Platinchloridpikrinosmiumessigsäure wird von einzelnen Untersuchern zur Fixation von Amphibienhoden empfohlen.

Regaud benutzt die Flemming'sche Flüssigkeit nur als Vorfixation, er injicirt sie subalbugineal, zieht die Albuginea ab und hängt den Hoden in Bichromatessigsäure nach Tellyesniczky auf.

Neben den Osmiumgemischen hat sich dann in den letzten Jahren auch die Sublimatfixation immer mehr Anhänger erworben, besonders auf die Empfehlung v. Lenhossék's; so empfehlen konc. Sublimat: Etzold für Hoden vom Sperling, v. Lenhossék für Rattenhoden (bei 35°), Meves für Meerschweinchen; Sublimatessigsäure: Drüner für Salamandra (koncentrirtes Sublimat 15, Eisessig 15, Wasser 300), Meves für das gleiche Objekt, Sabatier für Selachierhoden (20% Eisessig); Alkoholsublimatessig: v. Lenhossék für Rattenhoden (konc. Sublimat 75, abs. Alk. 25, Eisessig 5), Loisel für den Sperling, Regaud für die Ratte (Dauer nur einige Stunden, sonst starke Schrumpfung; Zenker'sche Flüssigkeit: Tellyesniczky für Eidechsenhoden, Meves für Salamandra und Meerschwein, Peter für Knochenfische, Plato für Kater. Von anderen Fixationslösungen sind noch gelegentlich für

den Hoden empfohlen worden· Pikrinformolessigsäure (konc. Pikrinsäure 15, Formol 5, Eisessig 1) von BOUIN (Meerschwein) und REGAUD (Ratte), konc. wässerige Pikrinsäure (SABATIER).

Zur Darstellung der Hodenkrystalloide eignet sich am besten Fixation in absol. Alkohol (REINKE). Die Endothelbekleidung der Tunica propria der Samenkanälchen weist REGAUD so nach, dass er zunächst eine interstitielle Injektion mit folgender Lösung macht: 3 Theile (konc. Pikrinsäure 80, 1%ige Osmiumsäure 20) und 1 Theil 1%igen Silbernitrats. Man lässt ihr dann eine interstitielle Alkoholinjektion folgen, schneidet den Hoden, wenn er hart geworden ist, in Scheiben und reducirt die in Balsam gebrachten dicken Scheiben im diffusen Licht.

Will man recht feine Paraffinschnitte vom Hoden erhalten, so thut man gut, den Aufenthalt im absol. Alkohol möglichst zu beschränken oder vor der Einbettung die Tunica propria vorsichtig mit der Pincette abzuziehen.

Von Färbungsmethoden kommen hauptsächlich das HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylin, die FLEMMING'sche Dreifachfärbung, die BENDA'sche Safranin-Lichtgrünfärbung, die EHRLICH-BIONDI'sche Dreifachfärbung in Betracht. (Ueber die Dreifachfärbung von Eisen vergl. Rutheniumroth.)

Da es sich bei Hodenuntersuchung in der überwiegenden Zahl der Fälle um Studien über Spermatogenese handelt, so wird man natürlich den Hoden zu der Zeit einlegen, wenn die Spermatogenese im vollen Gang ist. Für die vielbenutzte Salamandra ist das September oder Oktober, man nehme frisch eingefangene Thiere (HÄCKER). Bei Rana esculenta fällt das Maximum der Thätigkeit in den August, Rana fusca Juni bis September (NUSSBAUM). Für Reptilien, Vögel und die winterschlafenden Säugethiere dürfte die günstigste Zeit das erste Frühjahr sein, wenn die Thiere eben aus dem Winterschlafe erwacht sind. Bei Meerschwein, Ratte, Maus, Kaninchen findet man das ganze Jahr hindurch günstiges Material.

Litteratur: PLATO (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), REGAUD (Arch. d'Anat. micr., Bd. 4, 1901), GERMANO (Int. Mon. Anat. Physiol., Bd. 9, 1892), BENDA (Verh. anat. Ges., Göttingen 1893), DRÜNER (Jena. Zeit. Natur., Bd. 28 u. 29, 1894), MEVES (Arch. mikr. Anat., Bd. 47 u. 54, 1898 u. 1899), SABATIER (Trav. Inst. Zool. Montpellier, 1896), RAWITZ (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898), PETER (ebenda), LOISEL (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 36, 1900), NIESSING (Arch. mikr. Anat., Bd. 48, 1896), MAXIMOW (Beitr. path. Anat., Bd. 26, 1899), EISEN (Journ. Morph., Bd. 17, 1900), VOM RATH (Zeit. wiss. Zool., Bd. 57, 1893), v. LENHOSSÉK (Arch mikr. Anat., Bd. 51, 1897), ETZOLD (Zeit. wiss. Zool., Bd. 52, 1891), TELLYESNICZKY (Math. nat. Ber. Ungarn, Bd. 13, 1897), BOUIN (Arch. d'Anat. mikr., Bd. 1, 1897), REINKE (Arch. mikr. Anat., Bd. 47, 1896), HÄCKER (Praxis und Theorie der Befruchtungslehre, Jena 1899), NUSSBAUM (Zool. Anz., Bd. 3, 1880).

Höllenstein siehe Silbernitrat.

Hofmann's Violett, Syn. für Dahlia.

Hofmann's Grün, Syn. für Jodgrün.

Hollundermark, das Mark von Sambucus nigra wird vielfach zum Einklemmen kleiner Gewebsstückchen benutzt, die man mit den Fingern beim Schneiden schlecht halten kann.

Ein künstliches Hollundermark wird von MAYER so hergestellt, dass er verflüssigte Gelatine mit Ricinusöl gut durchschüttelt und nach dem Erkalten das fein vertheilte Oel mit Alkohol auslaugt. Es entsteht dann eine feinporige, gut schneidbare Masse.

Hollunderroth siehe Pflanzenfarbstoffe.

Holmgren'scher Apparat siehe Lebendes Gewebe, Untersuchung desselben.

Holothurien siehe Echinodermen.

Holzessig, Acetum pyrolignosum, Holzessigsäure. Wird die bei der trockenen Destillation des Holzes entstehende dickflüssige, braune Masse destillirt, so geht zunächst der Methylalkohol über, das, was dann folgt, wird als roher Holzessig, Acetum pyrolignosum crudum bezeichnet. Er stellt eine braune, eigenthümlich riechende Flüssigkeit dar, welche ausser ungefähr 6% Essigsäure enthält Propionsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Capronsäure, Methylalkohol, Aceton, Valerolakton, Adipinsäureketon, Methylpentamethylenketon, Essigsäuremethyläther, Furfurol, Pyroschleimsäure, Pyridin, Kreosot und andere phenolartige Körper. Dem Gehalt an letzteren verdankt der Holzessig seine konservirenden und antiseptischen Eigenschaften.

Durch weitere Destillation des rohen Holzessigs wird der rektificirte Holzessig erhalten, Acetum pyrolignosum rectificatum, der weniger harzartige Substanzen enthält. Er besitzt eine hellere Farbe, wird aber unter dem Einfluss des Lichtes bald dunkler.

Holzessig ist ein kräftiges Reduktionsmittel, roher stärker als rektificirter; Kaliumpermanganatlösung wird fast momentan entfärbt. Dieser Eigenschaft verdankt der Holzessig seine Verwendung zur Nachbehandlung von Osmiumpräparaten (siehe Osmiumsäure), früher wurde er vielfach in 25- oder 50%iger Lösung als Macerationsmittel benutzt, besonders zur Darstellung der Nervenplexus im Darm. Er verleiht dabei den Präparaten gleichzeitig eine etwas bräunliche Färbung. Auch manchen Fixationsgemischen wird er zugesetzt, so in der Remak'schen Flüssigkeit (2%iges Kupfersulfat 50 Ccm., 25%iger Alkohol 50 Ccm., rektif. Holzessig 35 Tropfen).

Holzessigfarben. Zur Färbung alter, sonst schlecht färbbarer Chromsäurepräparate hat Burchardt Lösungen von Karmin und Hämatoxylin in Holzessig empfohlen. Vor allem sollen sie für Stückfärbungen geeignet sein. Den Lösungen darf niemals Wasser zugesetzt werden und es sollen auch die Stücke oder Schnitte direkt aus starkem Alkohol in sie übertragen werden. Zur Bereitung kann man gereinigten oder rohen Holzessig verwenden, doch scheint der erstere empfehlenswerther zu sein, da das rohe Präparat den Geweben eine sehr dunkle Färbung verleiht und sich leicht Niederschläge bilden.

Holzessig-Hämatoxylin. Man löse 2 Grm. Kalialaun in 130 Grm. Holzessig kalt durch Umschütteln und setze dann 0,5 Grm. Hämatoxylin in wenig starkem Alkohol gelöst zu. Die Lösung muss 12 Tage reifen und ist völlig haltbar. Nach mehreren Monaten kann man der Lösung noch etwas Holzessig zusetzen. Färbung 1—12 Stunden je nach der Grösse der Stücke, dann gründliches Auswaschen in 50%igem Alkohol.

Holzessig-Karmin I. Man löse 2 Grm. besten Karmin in 100 Grm. Holzessig und koche über kleiner Flamme langsam auf die Hälfte ein. Nach dem Abkühlen filtriren. Färbung 12—24 Stunden, Auswaschen in 50%igem Alkohol und differenziren 2—3 Tage in Alaunalkohol, den man sich herstellt durch Schütteln von Alaun mit 50%igem Alkohol. Es lösen sich etwa 0.25%. Nach dem Differenziren Auswaschen in reinem 50%igem Alkohol.

Holzessig-Karmin II. Man löse in 100 Grm. Holzessig 3 Grm. besten Karmin und 0,5 Grm. Alaun und koche über kleiner Flamme auf die Hälfte ein. Färben 2—24 Stunden und Auswaschen in 50%igem Alkohol. Während das Karmin I eine sehr intensive Färbung giebt, tingirt sich mit Karmin II ausschliesslich das Chromatin. Am besten mischt man deshalb gleiche Theile von I und II, färbt 6—24 Stunden, wäscht zunächst bis 12 Stunden in 50%igem Alkohol, dann doppelt so lang in Alaunalkohol und dann wieder in 50%igem Alkohol aus.

Litteratur: Burchardt (Arch. mikr. Anat., Bd. 53, 1898).

Holzreaktionen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Homogene Immersion siehe Mikroskop.

Hornfasern siehe Coelenteraten.

Hornhaut siehe Sehorgan.

Hühnercholera, Bacillus der, der Geflügelcholera, der Geflügelpest, des Geflügeltyphoids, Bacillus cholerae gallinarum, Bacterium avicidum (Kitt).

Färbt sich in Deckglaspräparaten mit den gebräuchlichen, wässerigen Anilinfarbstofflösungen. Häufig färben sich die Pole mehr als die Mitte, oder die Mitte bleibt ungefärbt. Daher erscheinen die Bacillen achterförmig bezw. bisquitförmig oder den Diplokokken ähnlich. Bei intensiver Färbung treten sie als deutliche Bacillen in die Erscheinung. Bei Färbung nach der Gram-schen Methode werden die Bacillen der Hühnercholera entfärbt.

Kühnemann, Breslau.

Humor aqueus. Die die vordere und hintere Augenkammer erfüllende Flüssigkeit hat ein spec. Gew. von 1,003—1,009, ihr Brechungsindex beträgt 1,3349, sie enthält nach Lohmeyer 98,68% Wasser, 0,12% Eiweiss, 0,42% Extraktivstoffe, 0,68% Kochsalz, 0,01% Chlorkalium, 0,02% Kaliumsulfat, 0,02% Erdphosphate und 0,02% Kalkerde.

Das Kammerwasser wird vielfach in der Mikrotechnik als indifferente Zusatzflüssigkeit für frische Präparate benutzt. Man entnimmt es am besten dem eben getödteten Thier mittels einer Pravazspritze, deren Kanüle man durch die Hornhaut in die vordere Kammer einführt.

Hyalin. Unter dem Namen Hyalin hat v. Recklinghausen eine Reihe von Substanzen zusammengefasst, die sowohl normaler Weise, wie vor allem unter krankhaften Verhältnissen in den verschiedensten Geweben vorkommen und durch folgende Eigenthümlichkeiten gekennzeichnet sind. Es tritt in Gestalt von Kugeln, korallenstockartigen und vielfach verästelten Balken auf, theilt mit den Amyloid die starke Durchsichtigkeit und den Glanz, wird aber durch Jod nur strohgelb gefärbt. Es ist unlöslich in Wasser und Alkohol, ebenso in mittelstarken Säuren und Basen; dagegen wird es von starker Kalilauge und koncentrirter Salzsäure gelöst, ebenso von Magensaft bei Körpertemperatur. Alle hyalinen Substanzen haben grosse Affinität zu sauren Anilinfarbstoffen; da unter den Begriff des Hyalins eine Reihe von ihrer Entstehung nach verschiedenartigen Stoffen zusammengefasst sind, hat man den Versuch gemacht, sie auch genetisch und färberisch zu trennen. Klebs unterschied zuerst epitheliales Hyalin (Kolloid) und konjunktivales (parablastisches) Hyalin, eine Eintheilung, die Ernst dahin ausführte, dass bei der Anwendung der van Gieson'schen Färbung ersteres orange bis gelbbraun, letzteres leuchtend roth gefärbt würde. Lubarsch unterscheidet: I. Sekretorisches und degeneratives, intracellulär gebildetes Hyalin (Kolloid): *a)* epitheliales, *b)* konjunktivales. II. Extracellulär entstehendes Koagulationshyalin: *a)* hämatogenes. *b)* konjunktivales.

Bezüglich der Färbung gilt als Hauptsatz, dass alles Hyalin durch die Protoplasmafarbstoffe, insbesondere die sauren Anilinfarbstoffe stark gefärbt wird; die zur ersten Gruppe gehörigen Hyaline lassen sich aber meist auch durch Kernfarbstoffe mehr oder weniger intensiv färben, z. B. Schilddrüsenkolloid und die Russel'schen Fuchsinkörper, die wenigstens oft auch mit basischen Anilinfarbstoffen deutlich färbbar sind, doch ziehen auch sie bei Anwendung von Gemischen aus basischen und sauren Anilinfarbstoffen (Ehrlich'sches oder Biondi'sches Dreifarbengemisch) stets die sauren Farbstoffe vor. Obgleich es somit eigentlich keine besonderen Methoden zur Hyalinfärbung giebt, so seien hier doch einige, die besonders elegante Bilder

geben. angeführt. — Zur Härtung sind ziemlich alle gebräuchlichen Methoden (Alkohol. Formol, MÜLLER'sche Lösung, Sublimat, ZENKER'sche Flüssigkeit, weniger die Osmiumgemische) gleichmässig zu empfehlen. Zur Einbettung ist Paraffin dem Celloidin schon deswegen vorzuziehen, weil letzteres sich bei der Hyalinfärbung stark mitfärbt.

I. Färbung nach der WEIGERT'schen Fibrinmethode.

1. Vorfärbung mit Alaunkarmin, Borax- oder MAYER'schem Karmin.

2. Färbung, Differenzirung etc. in bekannter Weise.

Kerne roth. Hyalin blau bis violett. Doch werden auch nicht hyaline, nur leicht ödematöse oder gequollene Bindegewebsfasern stark mitgefärbt.

II. Färbung nach VAN GIESON.

1. Vorfärbung (am besten Ueberfärbung) mit DELAFIELD'schem Hämatoxylin.

2. Gründliches Auswaschen in Wasser.

3. Färbung mit VAN GIESON'scher Lösung (nach KANTOROWICZ am besten 150 Ccm. koncentrirter wässeriger Pikrinsäurelösung + 3 Ccm. koncentrirter wässeriger Säurefuchsinlösung) 3—5 Minuten, bei dünnen Paraffinschnitten lieber nur höchstens 2—3 Minuten.

4. Auswaschen in Wasser etwa $^1/_2$ Minute.

5. Entwässern in Alkohol, Xylol. Balsam.

Kerne braun, beziehungsweise braungelb, Hyalin leuchtend roth oder orangefarben.

III. Färbung nach RUSSEL.

1. Färbung in koncentrirter Lösung von Fuchsin (Diamantfuchsin) in $2^0/_0$igem Karbolwasser 10—30 Minuten.

2. Auswaschen in Wasser 3—5 Minuten.

3. Abspülen in absolutem Alkohol $^1/_2$—1 Minute.

4. Differenziren und Nachfärben in Karbolsäurejodgrün (1 Jodgrün. 100 $5^0/_0$iges Karbolwasser) 5 Minuten.

5. Rasches Entwässern in Alkohol absolut., Xylol, Einbetten in Balsam.

Kerne grünblau, Hyaliu leuchtend roth.

Litteratur: v. RECKLINGHAUSEN (Allgem. Pathol. d. Kreislaufs u. d. Ernährung, 1883), KLEBS (Allgem. Path., II. Theil, 1889), ERNST (Beitr. path. Anat., Bd. 11, 1891 und VIRCH. Arch., Bd. 130, 1892), LUBARSCH (Ergebnisse d. allgem. Pathol., Jg. 1, Abtheil. 2, pag. 26 und 204, 1895), KANTOROWICZ (Centr. allgem. Path., Bd. 4, 1893). *Lubarsch,* Posen.

Hydrochinon, Paradioxybenzol, $C_6H_4\begin{cases}OH\\OH\end{cases}$, entsteht bei der Reduktion von Chinon mittels schwefliger Säure oder Oxydation von Anilin mit Chromsäure. Es bildet farblose, hexagonale Prismen, die in Wasser (ca. $6^0/_0$), Alkohol und Aether leicht, in Benzol schwer löslich sind. Oxydirende Körper führen es in Chinon über. Die wässerige Lösung färbt sich, namentlich bei Gegenwart von Alkali, beim längeren Stehen durch Sauerstoffaufnahme dunkelbraun. Lösungen von Metallsalzen werden durch Hydrochinon reducirt.

Der letzteren Eigenschaft verdankt das Hydrochinon seine Verwendung als photographischer Entwickler nnd Reduktionsmittel für Silber- und Golgipräparate. (Näheres siehe Silberimprägnation und Golgimethode.)

Hydroiden siehe Coelenteraten.

Hydromedusen siehe Coelenteraten.

Hydroxylamin, $NH_2(OH)$, ist als Ammoniak zu betrachten, in dem ein H durch die Gruppe OH ersetzt ist. Es ist nur in wässeriger Lösung bekannt, reagirt alkalisch und wirkt stark reducirend, aus Silber-

und Quecksilbersalzen fällt es die Metalle. Nach HEINISCH besitzt das Hydroxylamin antiseptische Eigenschaften.

UNNA verwendet das Hydroxylamin bei der Färbung der Mikroorganismen im Horngewebe, er benutzt eine 1%ige Hydroxylaminchloridlösung. Dasselbe Salz benutzt HOFER zur Betäubung von Thieren. Er löst es in Wasser bis zu 1% und stumpft die Lösung durch Zusatz von kohlensaurem Natron bis zur neutralen Reaktion ab. Nachdem die Thiere in der Lösung gelähmt sind, werden sie mit dem Fixationsmittel direkt übergossen; hierbei sind aber alle leicht reducirbaren Agentien ausgeschlossen. HOFER hat günstige Erfahrungen an Protozoën, Hydroiden, Aktinien, Planarien, Anneliden, Rotiferen, Mollusken u. a. gemacht.

Litteratur: HOFER (Zeit. wiss. Mikr, Bd. 7, 1896, UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 13, 1891).

Mosse, Berlin.

Hymenopteren siehe Arthropoden.

Hyphen der Pilze siehe Schimmelpilze.

Hypochlorinreaktion siehe Chromatophorenfarbstoffe der Pflanzen.

Hypophyse. Nach SAINT-REMY ist die FLEMMING'sche Flüssigkeit das beste Fixationsmittel für Hypophyse, nach COMTE wirkt jedoch 4%iges Sublimat oder auch 10%iges Formol viel besser. Auch BENDA bevorzugt das letztere Fixationsmittel mit nachfolgender Chromirung der Stücke. Die Sekretgranula werden dadurch vorzüglich erhalten und färben sich auch gut. (Näheres siehe Mitochondrien.)

Litteratur: SAINT-REMY (Compt. rend., Bd. 114, 1892), COMTE (Beitr. pat. Anat., Bd. 23, 1898), BENDA (Arch. Physiol., 1900).

I.

Idioblasten der Cruciferen siehe Enzyme.

Igelstacheln. Die Stacheln von Erinaceus können an Stelle von Stecknadeln mit Vortheil dann verwandt werden, wenn es sich darum handelt, die aufgesteckten Präparate in Flüssigkeiten einzulegen, welche Metalle angreifen, oder welche durch Metalle zersetzt werden. Als Ersatz für Igelstacheln können unter Umständen die Stacheln mancher Kakteen dienen.

Immersionssysteme siehe Mikroskop.

Indifferente Medien siehe Beobachtungsflüssigkeiten, indifferente.

Indifferenzstreifen siehe Plasmabewegung.

Indigen, Syn. für Echtblau (Elberfeld).

Indigoblau siehe Glykoside.

Indigkarmin (Coeruleïn, Blaues Karmin), das Natronsalz der Indigblaudisulfosäure. $C_{16} H_8 N_2 O_2 (SO_3 H)_2$, bildet sich bei der Behandlung von Indigo mit rauchender Schwefelsäure. Es ist in Wasser ziemlich leicht löslich, wird aber durch Zusatz von Neutralsalzen wieder ganz ausgefällt. In absolutem Alkohol ist es fast unlöslich. Das Indigkarmin des Handels, das als Pulver oder Paste geliefert wird, hat die genannten Eigenschaften nicht, da es meist noch andere indigblausulfosaure Salze enthält, die aber der Verwendung zum histologischen Färben nicht hinderlich sind.

In der Mikrotechnik dient das absolut reine Indigkarmin in wässeriger Lösung zur Injektion in die Nieren (R. Heidenhain), ferner das Indigkarmin des Handels in Form eines ganz feinen Präcipitates zum Injiciren von Gefässen (0,15 Grm. in 50 Ccm. Wasser und 40 Ccm. Glycerin gelöst, dazu unter Umrühren 10 Ccm. einer 20°/$_0$igen Lösung von Chlornatrium; nach Thoma), hauptsächlich aber zum Färben. Hierzu taugen jedoch die einfachen wässerigen Lösungen des Indigkarmins nicht, da sie diffus tingiren. wohl jedoch in Verbindung mit Karmin zur Doppelfärbung. Man kann dabei entweder mit einer Karminlösung vorfärben oder beide Farbstoffe gleichzeitig anwenden, indem man z. B. nach Mayer eine Lösung von 1 Grm. Indigkarmin in 500 Ccm. Wasser (oder 5°/$_0$iger Alaunlösung) mit dem 4- bis 20fachen an Karmalaun vermischt. Das Indigkarmin färbt dann weder die Kerne noch den Schleim, wohl aber das Plasma und ist in Balsam haltbar. (Die wässerige Lösung des Indigkarmins hält sich bei grellem Lichte nur wenige Monate; dagegen ist die in Alkohol von 70°/$_0$ Jahre lang haltbar.)

Seiler färbt mit Boraxkarmin, differenzirt in saurem Alkohol, wäscht gut mit neutralem Alkohol aus und färbt mit einer äusserst schwachen alkoholischen Lösung von Indigkarmin (2 Tropfen einer gesättigten wässerigen Lösung auf 30 Ccm. Alkohol) nach.

Die früher viel benutzte Vorschrift von MERKEL (fälschlich von NORRIS u. SHAKESPEARE) zur Herstellung einer Lösung von Karmin und Indigkarmin in Boraxlösung ist nach MAYER unpraktisch und irrationell; auch ist die Lösung, weil stark alkalisch, den Geweben schädlich.

Indigkarmin (1 Grm.), in gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure (400 Ccm.) gelöst, benutzt CALLEJA zur Nachfärbung der mit Karmalaun oder einem Karmingemisch vorgefärbten Schnitte; er fixirt die Plasmafärbung durch rasches Auswaschen in sehr verdünnter Essigsäure. SCHIEFFERDECKER stellt diese Färbung der mit Säurefuchsin und Pikrinsäure durchaus zur Seite. Nach meinen Erfahrungen ist sie aber nicht so gut wie letztere, da das Blau und Gelb sich lange nicht so scharf von einander abheben wie das Roth und Gelb.

Litteratur: LEE und MAYER (Grundzüge). *Mayer*, Neapel.

Indigschwefelsaures Natron siehe Injektion, physiologische.

Indikane siehe Glykoside.

Indischgelb, Syn. für Azogelb (Ludwigshafen).

Indoïnblau, Monazofarbstoff, der durch Behandlung von Safraninazo-β-naphtol mit Salzsäure entsteht (Ludwigshafen). Bronzeglänzendes Pulver, das in Wasser und Alkohol mit violetter, in Schwefelsäure mit grüner Farbe löslich ist. Die wässerige Lösung giebt mit Salzsäure blauen, mit Natronlauge violetten Niederschlag.

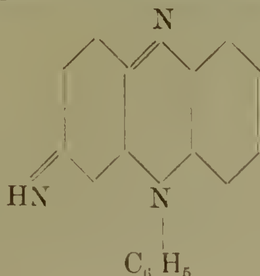
COX benutzt zum Nachweis der Fibrillen in den Zellen der Spinalganglien eine 5%ige wässerige Lösung von Indoïnblau BB, die er mit der Hälfte 5%iger Alaunlösung verdünnt. Die Schnitte kommen zunächst für 8 Stunden in eine 20—25%ige Tanninlösung, dann für 5—10 Minuten in 5%igen Brechweinstein, werden 10 Minuten ausgewaschen und 12—18 Stunden gefärbt. Die überschüssige Farblösung wird durch Abtupfen mit Fliesspapier entfernt, dann wird mit einer Mischung von 3 Theilen Xylol und 2 Theilen absoluten Alkohols differenzirt und durch Xylol in Balsam eingeschlossen. Das Material war 2—3 Tage in einer Mischung von koncentrirtem Sublimat 30, 1%iger Osmiumsäure 10, Eisessig 5 oder koncentrirtem Sublimat 15, 5%igem Platinchlorid 15, 1%iger Osmiumsäure 10, Eisessig 5 behandelt.

Litteratur: COX (Festschrift, herausg. vom Niederländischen Psychiatrischen Verein, anlässlich des 25jährigen Bestehens, s' Hertogenbasch 1896), derselbe (Anat. Hefte, 31, 1898).

Indol, Reaktion auf Verholzung siehe Zellmembrane, pflanzliche.

Induline. Unter dem Namen Induline fasst man eine Farbstoffgruppe zusammen, die den Safraninen sehr nahe steht und sich von ihnen durch den Mangel von Sauerstoff in den freien Basen und die geringe Basicität unterscheidet. 1865 wurde das erste Indulin von CARO und DALE durch Einwirkung von Anilin auf salzsaures Amidazobenzol dargestellt. An Stelle des Amidoazobenzols können dann Nitrobenzol oder Nitrophenol treten und es entstehen dann die Nigrosine.

Nach FISCHER und HEPP lassen sich die Induline alle ableiten von einem einfachsten Indulin folgender Konstitution:



Die Induline sind in Wasser sehr schwer löslich, behandelt man sie aber mit koncentrirter Schwefelsäure, so entstehen die wasserlöslichen Induline. Hierher gehören Echtblau R und B (Berlin, Höchst), Solidblau (Geigy), Indulin R und B (Kalle). Es sind das alles bronzeglänzende, in Wasser, Alkohol und Schwefelsäure mit blauer Farbe lösliche Pulver. Die wässerige Lösung giebt mit Natronlauge braune Fällung.

Von CALBERLA in die Mikrotechnik eingeführt ist das Indulin später hauptsächlich von EHRLICH empfohlen worden. Zur Darstellung seiner acidophilen Granulationen benutzt er eine Lösung von je 2 Grm. Indulin, Eosin und Aurantia in 30 Grm. Glycerin. Es färben sich damit die erwähnten Granulationen roth, die Erythrocyten orange und die Leukocytenkerne schwarzblau. NIKIFOROFF benützt dieselbe Lösung zur Färbung von Drüsenschnitten aus Sublimat. Er färbt die Schnitte 24 Stunden lang, spült in Wasser ab und bringt rasch durch Alkohol in Xylol. Die Färbung giebt nach unseren Erfahrungen für Darm- und Speicheldrüsen recht gute Resultate.

Litteratur: CALBERLA (Morph. Jahrb., Bd. 3, 1877), NIKIFOROFF (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891).

Influenzabacillus. Der Erreger der Influenza wurde von R. PFEIFFER 1892 entdeckt und gezüchtet. Es handelt sich um unbewegliche, sehr kleine und dünne, oft zu 2 liegende Bacillen, die sich bei Influenzakranken hauptsächlich in dem grünlichen, stark eiterigen Sputum aus der Tiefe der Bronchien, aber auch sonst im Sekret der Nase und anderen Luftwege vorfinden. Sie bilden dann oft dichte Schwärme. Ihre Färbung gelingt leicht mit dünnem Karbolfuchsin. Nach GRAM sind sie nicht färbbar. In späteren Stadien der Krankheit finden sie sich spärlicher, liegen oft innerhalb von Eiterzellen, sehen oft gequollen und unregelmässig aus und färben sich schlechter. Ausser in den erwähnten Sekreten findet man sie auch oft im Lungengewebe, in eiterigen Pleuraexsudaten, selten im Blut, im Gehirn und anderen Organen.

Die Züchtung gelingt nur auf hämoglobinhaltigen Nährböden, die man sich so herstellt, dass man z. B. Taubenblut auf Nähragar aufstreicht. Es entstehen dann feine thautropfartige Kolonien, welche in mit dünnem Fuchsin gefärbten Präparaten feine Stäbchen und mehr oder weniger lange Scheinfäden aufweisen.

Litteratur: PFEIFFER (Deutsche med. Woch., 1892), PFEIFFER und BECK (ebenda), PFEIFFER (Zeit. Hyg., 1893, Bd. 13), FLÜGGE (Mikroorganismen, Bd. 2). *Heymann*, Breslau.

Infusorien siehe Protozoen.

Injektion der Blut- und Lymphgefässe.

Historisches. Die Erfindung der anatomischen Injektionsspritze durch REGNERUS DE GRAAF[109]) im Jahre 1668, ferner die Beschreibung der ersten erstarrenden Injektionsmasse durch SWAMMERDAM[142]) im Jahre 1672 und schliesslich die Einführung der Methode der Quecksilberinjektionen durch NUCK[101]) im Jahre 1692 führten einen bedeutenden Umschwung in der anatomischen Forschung herbei. Durch die Injektionstechnik ist, wie BLUMENBACH[13]) sich ausdrückt, »nova quadam luce structura corporis humani illustrata est, et via quasi strata ad thesauros praeparatorum anatomicorum colligendos«. In der That erregten die von RUYSCH[120]) in kunstvoller Weise hergestellten und in seiner Privatsammlung vereinigten anatomischen Präparate, welche später von dem Czaren Peter dem Grossen für 30.000 Goldgulden angekauft worden sind, nicht nur das Interesse der Fachgelehrten, sondern setzten alle Welt in Erstaunen. Ausser der von RUYSCH[119]) gegebenen Beschreibung seiner Präparate ist von diesen selbst leider nichts erhalten geblieben, da dieselben mit einer wenig haltbaren Fettmasse injicirt waren.

In der ersten Hälfte des 18. Jahrhunderts kamen ausser der Injektionsspritze, welche wesentlich verbessert wurde, bereits andere Injektionsapparate zur Verwendung; so konstruirte HALES[61]) den ersten Apparat mit konstantem Druck und HOMBERG[69]) und SCHACHER[124]) benutzten die Luftpumpe bei Injektionen. Gleichzeitig wurden neue Injektionsmassen in die Technik eingeführt, und zwar Metalle zum Zwecke von Korrosionsinjektionen, mit Terpentin bereitete Massen (MONRO), Leimmassen (ROUHAULT) und schliesslich Harzmassen (LIEBERKÜHN).

Mit LIEBERKÜHN[83]) beginnt die Entwicklung der mikroskopischen Injektionstechnik, da er seine Injektionsapparate mittelst selbst angefertigter Mikroskope untersuchte. Seine Präparate waren von vollendeter Schönheit und gelangten ebenso wie ehedem die anatomischen Präparate von RUYSCH zu grosser Berühmtheit. Die Injektionsmethode von LIEBERKÜHN wurde mit grösseren oder kleineren Modifikationen von allen späteren Forschern bis auf HYRTL[76]) nachgeahmt und erst verlassen, als man den Gebrauch von transparenten Massen, welche sich für mikroskopische Untersuchungen noch besser eigneten, kennen lernte.

Bei der Darstellung der neueren Injektionsmethoden liess es sich nicht umgehen, auf die ältere anatomische Injektionstechnik zurückzugreifen, da beide mit einander zu eng verknüpft sind, als dass sich eine scharfe Grenze zwischen denselben ziehen liesse. Die diesbezügliche ältere Literatur ist jedoch nur insofern herangezogen worden, als es zum Verständniss und zur Vervollständigung der Uebersicht über die Injektionstechnik erforderlich erschien. Mit der Entwicklung der modernen mikroskopischen Technik sind die älteren Methoden der Gefässuntersuchung zwar zum grössten Theil verlassen worden, doch sind die ehedem zu Injektionen benutzten Apparate und Substanzen, wie der Leim, Terpentin, Harze und verschiedene Farbstoffe nur mit wenigen Ausnahmen (Celloidin) die gleichen geblieben und finden auch heute noch die gleiche Verwendung.

Das Injektionsmaterial. Tödtung der Thiere. Was zunächst das menschliche Material betrifft, so ist es klar, dass für mikroskopische Untersuchungen möglichst frischen Leichen oder Leichentheilen der Vorzug vor älteren gegeben werden muss. Auch eignen sich jüngere Individuen besser zu Injektionen als ältere (HARTING). Nach dem übereinstimmenden Urtheil aller neueren Autoren gilt letzteres besonders für Lymphgefässuntersuchungen. Eine Vorwärmung des Materials ist nur in dem Falle erforderlich, wenn warmflüssige Leimmassen angewandt werden sollen. Dieselben Bemerkungen haben auch für nicht ganz frisches thierisches Material ihre Geltung.

Frisch getödtete Thiere eignen sich zu mikroskopischen Injektionen am besten.

Bezüglich der Tödtung rathen einige Autoren, wie BEALE[8]), die Thiere mittelst Kohlensäure zu ersticken, oder in der Weise vorzugehen, dass man die Thiere aus einer gewissen Höhe plötzlich auf den Boden fallen lässt. Letzteres Verfahren dürfte wohl wegen der durch die Erschütterung hervorgebrachten Zerreissungen und Extravasate nicht immer günstig sein.

OVIATT und SARGENT[102]) haben bei Injektionen mit glycerinösen Massen schlechte Erfolge erzielt, weil, wie sie behaupten, die Masse eine Kontraktion der Gefässe verursacht. Daher rathen sie, die Thiere mit einem Gemisch von Aether und Amylnitrit erst zu betäuben und dann mit reinem Amylnitrit zu tödten, oder man könne auch in der Weise vorgehen, dass man nach der Tödtung die Thiere zuerst mit Normalsalzwasser, welches Amylnitrit enthält, injicirt und dann die Masse nachschickt, der man eventuell ebenfalls etwas Amylnitrit zufügt.

MAYER[95]) räth, Seefische mit Süsswasser oder noch besser mit einer starken Lösung von Kaliumchlorid in Süsswasser abzutödten. Durch Kaliumchlorid dehnen sich nämlich die Hautvenen aus.

Nach den Erfahrungen des Referenten ist die Todesart des Thieres für den Ausfall der Injektion ohne Belang, wohl aber die Temperatur, die Reaktion und Koncentration der Massen, wenn dieselben unmittelbar nach

dem Tode des Thieres injicirt werden. Warme Massen rufen bei wechselwarmen, kalte Massen bei warmblütigen Thieren eine reflektorische Kontraktion der Gefässe hervor. Ebenso wirken stark alkalische Flüssigkeiten und koncentrirte (Wasser entziehende) Lösungen. Die Nachtheile von solchen Massen lassen sich jedoch leicht beseitigen, wenn man entsprechend temperirte, möglichst neutrale und weniger koncentrirte Massen verwendet. Referent lässt die Thiere meist zu Tode narkotisiren und injicirt dann unmittelbar, nachdem die nothwendigen Präparationen vorgenommen sind, ohne abzuwarten bis »die allgemeine Starre der Theile einer beginnenden Erschlaffung Platz gemacht hat« (Harting).

Behufs Injektion von niederen Thieren empfiehlt Joseph[78]), die Thiere durch starke Abkühlung auf Eis zu lähmen.

Flemming[44]) tödtete Mollusken in der Weise ab, dass er die Thiere gänzlich durchfrieren und dann langsam wieder aufthauen liess

Um Seethiere abzutödten, wird man wohl am besten den Rathschlägen Lo Bianco's[89]) folgen.

Apparate und Hilfsinstrumente. Eine eingehende Beschreibung aller zu Injektionen empfohlenen Apparate ist im ersten Abschnitte des speciellen Theiles zu finden. Hier sei nur so viel erwähnt, dass von allen zu Injektionen benutzten Apparaten sich die Handspritze am besten bewährt und die komplicirten und kostspieligen Apparate mit konstantem Druck in neuerer Zeit vollkommen in den Hintergrund gedrängt hat. Ausser der Spritze kommt für sehr feine Injektionen von zarten Objekten, Embryonen und niederen Thieren noch eine fein ausgezogene Glasröhre zur Verwendung. In dieselbe wird die Injektionsmasse aufgesogen, die Röhre alsdann in das Gefäss eingestochen, und die Masse durch Blasen mit dem Munde in das Gefäss eingetrieben.

Das Einbinden der Kanüle in das Gefäss. Während das Einbinden der Kanüle in gröbere Gefässe keine Schwierigkeiten bereitet, ist das Einführen und Einbinden der Kanüle in feinere Gefässe und Drüsengänge oft sehr mühevoll. Die wesentlichste Bedingung, welche vielfach wenig beachtet wird, ist eine gute und intensive Beleuchtung des Arbeitsfeldes. Das Tageslicht, ja sogar direktes Sonnenlicht ist jeder künstlichen Beleuchtung vorzuziehen. Nachdem das betreffende Gefäss ganz frei gelegt ist, was besser durch stumpfe Präparation als durch scharfe geschieht, wird unter demselben ein Ligaturfaden hindurchgeführt, welcher über dem Gefäss sogleich zu einer losen Schlinge geknüpft wird. Alsdann fasst man das Gefäss mittelst einer Pincette an seinem distalen Theile, spannt es ein wenig an und schneidet es auf der Strecke zwischen der Pincette und dem Ligaturfaden mittelst einer feinen Schere seitlich quer an. Hierauf führt man die eine Branche der Schere in die Oeffnung ein und macht von dem Querschnitt aus noch einen kurzen Längsschnitt. Ohne das Gefäss mit der Pincette los zu lassen und die Oeffnung im Gefäss aus dem Auge zu verlieren, versucht man nun eine entsprechend feine Kanüle einzulegen. Letztere befindet sich erst dann im Gefässlumen, wenn sie sich leicht weiter vorschieben lässt. Ist dies der Fall, so wird der Ligaturfaden über der Kanüle fest zusammen gezogen. Sollte das Einführen der Kanüle nicht gelingen, oder gleitet dieselbe in das Gefäss nicht leicht hinein, so sucht man statt der Kanüle zuerst einen glatt abgestumpften feinen Draht, eine Stricknadel oder eine Sonde von entsprechender Feinheit in das Gefäss hineinzuschieben. Hat man jetzt den richtigen Weg gefunden, so versucht man neben der Sonde die Kanüle einzuführen. Gelingt auch das Einlegen der Sonde nicht, so macht man am besten eine neue Oeffnung in dem Gefäss. Bei einem solchen Vorgehen gelangt man meist am schnellsten und am sichersten zum Ziele; allerdings gehört auch einige Uebung dazu.

Rusconi [117]) hat sich in der Weise zu helfen gesucht, dass er eine Nähnadel von 5—6 Cm. Länge an ihrem Ende in 3 Facetten zuschärfte und dieselbe dann in eine Federspule aus dem Flügel eines Rebhuhns oder einer Wachtel hineinpasste. Sollte die Injektion vor sich gehen, so fasste Rusconi das betreffende Gefäss mit einer Zange, stiess die Nadel vorsichtig in das Gefäss und schob über die Nadel die Federspule vorsichtig nach. Hierauf wurde die Nadel entfernt und durch die Federspule als Kanüle mittelst einer kleinen Spritze die Flüssigkeit injicirt.

Einen speciell für pathologische Anatomen sehr brauchbaren Handgriff zur Gefässinjektion hat Rindfleisch [113]) angegeben. Der pathologische Anatom kommt nämlich nicht selten dadurch in Verlegenheit, dass er ein Organ dann injiciren möchte, nachdem es durchschnitten ist. In solchen Fällen führt Rindfleisch lange an der Spitze perforirte Katheter in ein angeschnittenes Gefäss so weit hinein, bis sich derselbe in dem Gefäss einkeilt. Wenn dann die Masse eingespritzt wird, so lassen sich auf diese Weise kleinere Gefässgebiete wenigstens noch leidlich füllen.

Bei Einstichinjektionen, die besonders zur Darstellung der Lymphgefässe ausgeführt werden, sticht man die Kanüle schräg zur Oberfläche des betreffenden Organes ein und stösst dieselbe dann noch um einige Millimeter parallel zur Oberfläche vor. Bei vorsichtigem Druck auf den Kolben der mit der Kanüle von vorneherein verbundenen Spritze dringt die Injektionsmasse in das Gewebe ein und bildet um das Kanülenende zunächst nur eine kleine Erhöhung. Bei weiterem Drucke füllt die Masse in einem Moment das ganze umliegende Kapillarnetz der Lymphgefässe, vorausgesetzt, dass die Kanüle beim Einstechen in dasselbe hineingelangt ist. Indem man in der gleichen Weise schrittweise fortschreitet, lassen sich die Gefässnetze auf ziemlich grosse Strecken auffüllen, ja bei weiterem Drucke gelangt die Masse in die tieferen Stämmchen hinein und dringt bis zu den regionären Lymphdrüsen vor. Entsteht nach dem Einstich nur eine Flüssigkeitsbeule ohne das Gefässnetz an ihrer Peripherie, dann ist die Kanüle zu tief eingedrungen. Man muss dieselbe in einem solchen Falle wieder herausziehen und von neuem einstechen.

Die Auswahl der Massen bei Injektionen. Die Wahl der Injektionsmasse hängt einerseits von den Intentionen des Untersuchers, andererseits von dem Objekte ab: von den Intentionen des Untersuchers insofern, als derselbe nicht immer die ganzen Blutgefässe eines gegebenen Organes gefüllt zu sehen wünscht, sondern oft nur einzelne Theile derselben, wie das arterielle, Kapillar- oder venöse Gebiet, ferner die Drüsengänge oder Lymphgefässe; und vom Objekte ist die Auswahl der Masse insofern abhängig, als kaum eine Masse existirt, die zur Injektion eines jeden Organes und ferner zur Injektion von höheren und niederen Wirbelthieren und wirbellosen Thieren geeignet wäre. Mit vollem Rechte sagt auch der Meister der Injektionskunst Hyrtl: »Wer etwa der Meinung ist, dass man nur das Recept einer feinen Injektionsmasse zu besitzen braucht, um die Kapillargefässe aller Gewebe darstellen zu können, wird sich durch den Erfolg seiner Arbeiten bald enttäuscht finden. Keine einzige mikroskopische Injektionsmasse ist für alle Organe in gleichem Grade brauchbar.«

Will man nur die Arterien bis zu den Kapillaren gefüllt sehen, so benutzt man zur Injektion sehr dickflüssige Leimmassen oder die alkoholischen Schellacklösungen, eventuell auch die Korrosionsmassen. Sollen Arterien und Kapillaren dargestellt werden, so hat man die grösste Auswahl zwischen den wässerigen, Leim-, Eiweiss- und Oelmassen. Die transparenten Leimmassen liefern jedenfalls die schönsten Bilder, setzen aber eine sorgfältige Herstellung der Massen voraus. Die übrigen Massen sind zwar leichter zu bereiten, stellen sich aber in den Gefässen nicht so schön dar, weil der Farbstoff körnig ausfällt oder die Masse das Gefässlumen nicht gänzlich ausfüllt. Weit schwieriger sind Venen und von den Venen aus die Kapillaren zu füllen, weil Klappen und das in den Venen aufgestaute Blut das Vordringen der Masse verhindern. An Leichentheilen lässt sich ein Theil des Blutes durch vor-

sichtiges Auspressen entfernen, bei frisch getödteten Thieren lässt man es durch Anschneiden der Vene ausfliessen. Zu ausschliesslicher venöser Injektion können, falls keine Klappen vorhanden sind, ebenfalls dickflüssige Leimmassen oder alkoholische Schellacklösungen und Korrosionsmassen benutzt werden. Wird aber die Injektion durch die Klappen verhindert, dann bleibt kein anderer Weg übrig, als leichtflüssige Massen von der Arterie aus durch die Kapillaren in die Venen zu treiben und derselben dann eine anders gefärbte dickflüssige Masse durch die Arterien bis zu den Kapillaren nachzuschicken (Eichler, Spalteholz). Zur Injektion des Kapillargebietes von den Venen aus lassen sich, falls dies der Klappen wegen überhaupt möglich ist, die oben für arterielle Injektion angeführten Massen anwenden.

Wo es sich darum handelt, in einem Objekte sämmtliche Gefässe zu füllen, da wird man sich der Oelmasse oder des wasserlöslichen Berlinerblau bedienen. Die Oelmasse gibt stets vollkommenere Injektionen, verlangt aber eine Fixirung der Präparate in starkem Alkohol. Für feinere histologische Untersuchungen wird man daher die gleichen Erfolge mit dem wasserlöslichen Berlinerblau zu erreichen suchen.

Ein gewisser Gefässbezirk wird am sichersten stets von den nächsten ihm angehörenden Gefässen injicirt. Ist der Zutritt zu dem Gebiete zu sehr erschwert und das Gefäss zu klein, um in dasselbe eine Kanüle einlegen zu können, so führt man letztere in das nächste grössere Gefäss ein, unterbindet dann aber sorgfältig alle weiteren nicht in das betreffende Gebiet führenden Verzweigungen. Das vielfach geübte Verfahren, das ganze Thier auf einmal zu injiciren, falls man nur ein Organ oder einen bestimmten Bezirk gefüllt haben will, führt in der Mehrzahl der Fälle zu schlechten Resultaten.

Bei Doppelinjektionen injicirt man im allgemeinen zuerst die Vene und dann die Arterie mit verschieden gefärbten Massen. Eine drei- oder vierfarbige Injektion auszuführen, ist kaum möglich, und nur den geübten Händen Hyrtl's gelang es, die Leber und die Nieren mit Pfortader (bei Amphibien) vierfach zu injiciren.

Zur Injektion von niederen Wirbelthieren sind ausschliesslich kaltflüssige Massen anwendbar, wie die wässerigen, kaltflüssigen Leimmassen. Eiweiss-, Schellack-, Oelmassen.

Hinsichtlich der zur Injektion von wirbellosen Thieren, Drüsengängen und Lymphgefässen geeigneten Massen, sowie bezüglich der Korrosionsinjektionen sind die betreffenden Abschnitte nachzuschlagen.

Die Quantität der zu injicirenden Masse. Man halte stets eine grössere Menge von Injektionsmasse in Bereitschaft, als zu einer Injektion voraussichtlich nöthig ist, um während der Injektion eventuell nicht in Verlegenheit zu kommen. Hyrtl räth zwar, von Leimmassen nur so viel zu bereiten, als eben zu einer Injektion nöthig ist, weil der übrig bleibende Rest verderbe, doch sind diese Befürchtungen heutzutage überflüssig, da sämmtliche Massen, die Leimmassen nicht ausgeschlossen, sich sehr gut längere Zeit aufbewahren lassen.

Die Frage, wie viel Masse eingespritzt oder, mit anderen Worten ausgedrückt, wie weit eine Injektion getrieben werden soll, ist für die wesentlichsten in Betracht kommenden Fälle in folgender Weise zu beantworten:

Sollen lediglich nur die Arterien oder nur die Venen gefüllt werden, so benutzt man eine der oben angeführten Massen, die dickflüssige Leimmasse, die Schellack- oder Celloidinmasse und treibt von denselben so viel in die Gefässe ein, als dieselben nur fassen können. Dabei kann man einen recht starken Druck anwenden, ohne zu befürchten, dass die Gefässe platzen.

Bei Injektionen, die auch das Kapillargebiet umfassen, muss der zu füllende Theil so weit freigelegt werden, dass derselbe möglichst vollständig zu übersehen ist.

Soll von den Arterien aus nur das arterielle Kapillargebiet injicirt werden, dann treibt man unter mässigem Druck so viel Masse ein, bis dieselbe an cirkumskripten Stellen an der Oberfläche des Organes sichtbar wird.

Wünscht man sich eine Injektion der gesammten Kapillaren bis in die Venen hinein, so spritzt man so viel Masse ein, bis sich die ganze Oberfläche gleichmässig in der Farbe der Injektionsmasse gefärbt hat.

Bei der Füllung der Kapillaren von den Venen aus ist ein relativ sehr geringer Druck erforderlich, dagegen eine verhältnissmässig grosse Menge Masse. Dieselbe wird so lange injicirt, bis sich die ganze Oberfläche des Organs ziemlich gleichmässig gefärbt hat. Ueber den Füllungsgrad der Gefässe giebt übrigens auch der an dem Spritzenkolben fühlbare Widerstand Auskunft; steigt derselbe bedeutend, so muss die Injektion jedenfalls unterbrochen werden, falls man umfangreiche Extravasate vermeiden will. Stellt sich schon bei geringer Füllung der Gefässe ein Widerstand ein, dann hat sich die Kanüle verstopft. In einem solchen Falle wird man dieselbe mittels eines feinen Drahtes wegbar zu machen suchen oder dieselbe durch eine neue ersetzen.

Die Nachbehandlung der Injektionspräparate. Nach beendeter Injektion werden die betreffenden Gefässe am besten abgebunden. Unumgänglich nothwendig ist dies bei Injektionen mit Oelmassen. Sind die injicirten Präparate klein, so werden sie in toto in die betreffende Fixirungsflüssigkeit gethan. Grössere Objekte zerschneide man besser in kleinere Stücke. Ein Ausfliessen der erstarrenden und wässerigen Massen ist ausgeschlossen, nur mit Oelmassen gefüllte Präparate dürfen nicht angeschnitten und müssen in starkem Alkohol fixirt werden. Das beste Fixirungsmittel für Leiminjektionen ist ebenfalls Alkohol oder auch Formol. Im übrigen lassen sich fast alle in der mikroskopischen Technik üblichen Fixirungsmittel auch für Injektionsapparate verwenden, nur bei Eiweissmassen ist das Formol ausgeschlossen.

Die Litteratur über allgemeine Injektionstechnik. Eingehendere Angaben über verschiedene bei Injektionen nützliche Handgriffe finden sich in den Werken von STRAUSS-DURCKHEIM, HARTING, FREY, HYRTL, ROBIN, RANVIER, BEALE.

Specielle Injektionstechnik.

Apparate und Instrumente.

Historisches über die Injektionsspritze. Während die Spritze als solche bereits im klassischen Alterthum bekannt war (vergl. HERODOT, II, 87, über die Einbalsamirung der Todten bei den Aegyptern), ist dieselbe zur Gefässinjektion erst im 17. Jahrhundert zur Anwendung gekommen. Die früheren Anatomen, wie GALEN[63]) und im Mittelalter STEPHANUS[135]) (ETIENNE), EUSTACHIUS[41]), SYLVIUS[143]) (DUBOIS) u. a. machten sich die Gefässe in der Weise sichtbar, dass sie mittels einfacher Röhren (tubuli) Luft oder Wasser in die Gefässe eintrieben.

Nach den Angaben von REGNERUS DE GRAAF[109]) hat er als erster eine Spritze eigener Konstruktion zu anatomischen Untersuchungen angewandt*:

* STRAUSS-DURCKHEIM schreibt die Erfindung der Injektionsspritze SWAMMERDAM zu und bezeichnet dieselbe ihm zu Ehren als SWAMMERDAM'sche Spritze. Soweit Referent feststellen konnte, liegt hier ein Irrthum vor, denn SWAMMERDAM hat nicht die Spritze, sondern die erste Injektionsmasse erfunden.

»excogitavimus atque in usum anatomicum introduximus instrumentum«, dessen genaue Beschreibung und Abbildung in der Schrift »de usu syphonis« 1668 zu finden ist. Die Spritze GRAAF's unterscheidet sich von den heutzutage zu groben Injektionen benutzten Spritzen insofern, als die Kanülen sehr lang waren und an die Spritze angeschraubt wurden.

Fast um die gleiche Zeit, denn im Jahre 1676, veröffentlichte CASPAR BARTHOLIN [5]) eine Beschreibung und Abbildung einer Spritze seiner eigenen Erfindung (Portal III, pag. 504), welche der ersten sehr ähnlich war. Nur an der Kanüle soll ein Hahn und seitlich eine Röhre mit einem Ventil angebracht gewesen sein, durch welche frische Masse in die Spitze eingezogen wurde, ohne dass letztere abgenommen zu werden brauchte.

Wesentlich verbessert wurde diese wenig handliche Spritze durch MONRO [97]) und unabhängig von diesem durch LIEBERKÜHN [88]).

Bei dem MONRO'schen Instrument ist das Verschlussstück am vorderen Ende des Spritzenrohres abschraubbar. Die Kanülen werden auf das in eine kurze Röhre auslaufende Verschlussstück einfach aufgesetzt. Die grösseren Kanülen besitzen, wie diejenigen BARTHOLIN's, seitlich eine Röhre zum Aufsaugen der Masse.

Die gleiche Beschreibung gilt auch für die Spritze LIEBERKÜHN's. Die dazu gehörenden Kanülen sind kurz, werden auf die Spritze ebenfalls nur aufgesetzt und mittels einer eigens konstruirten Zange an der Spritze festgehalten.

Mit Hilfe der verbesserten Spritze sowie mittels der gleichzeitig erfolgten Vervollkommnung der Injektionsmassen vermochte MONRO, wie er selbst angiebt, »ganz feine, haardünne Gefässe« zu füllen; und nach dem Urtheile HYRTL's hat es LIEBERKÜHN zuerst dahin gebracht, Injektionen zu machen, welche die stärksten Vergrösserungen vertrugen. Hiermit war die Injektionsspritze auch in die mikroskopische Technik eingeführt und hat sich, ohne eine weitere principielle Umgestaltung zu erfahren, in der gleichen Form bis zum heutigen Tage erhalten.

Material, Form und Grösse der Spritze. Das Material, aus welchem die Injektionsspritzen angefertigt werden, ist Messing, Silber (REGNERUS DE GRAAF, TEICHMANN), Neusilber, Aluminium (DALLA ROSA), Glas mit Metallmontirung, Glas mit Hartgummimontirung, schliesslich nur Glas (BONNET).

In der Form variiren die Spritzen insofern, als einige Autoren eine längere und schmälere, andere eine kürzere und dickere Form bevorzugen. Nach RANVIER [107]) muss »eine gute Spritze kurz und weit sein, damit man behufs Reinigung mit dem Finger bis auf den Boden gelangen kann«.

Für mikroskopische Injektionen darf die Spritze nicht gross sein, weil dieselbe sonst zu wenig handlich ist. Am bequemsten sind Spritzen von 30 Ccm., höchstens 40 Ccm. Volumen. Kleiner dürfen die Spritzen wohl sein, nicht aber grösser. Für Lymphgefässinjektionen genügen Spritzen von 5—9 Ccm., Inhalt, ja selbst die kleinen PRAVAZ'schen Spritzen von 1 bis 2 Ccm. Inhalt.

Einzelne Theile der Spritze. Das Spritzenrohr muss, mag es aus Metall oder Glas bestehen, im Innern sehr genau kalibrirt sein, damit der Kolben in demselben gleichmässig hin und her gleiten kann. Jede Unebenheit im Rohre setzt dem Vorschieben des Kolbens einen Widerstand entgegen. Drückt man bei vorhandenem Widerstand während einer Injektion stärker auf den Kolben, so springt derselbe dann plötzlich über die Unebenheit hinweg und treibt mit einemmale sehr viel Masse unter hohem Druck in die Gefässe vor, so dass leicht Zerreissungen und Extravasate entstehen. Die äussere Fläche des Spritzenrohres ist meist glatt. Zweckmässiger ist es jedoch, zwei ziemlich stark hervorspringende Ringe an dem Rohre anbringen zu lassen, den einen am hinteren Ende, den an-

deren am hinteren Drittel, wie es FREY [50]), ROBERTSON (cit. nach BEALE) und ROBIN [114]) empfehlen. Auch ist es vortheilhaft, den Rand des hinteren Ringes kantig machen zu lassen, um das Fortrollen beim Hinlegen der Spritze zu vermeiden (siehe Fig. 19).

Für Massen, welche sehr heiss injicirt werden, empfehlen ROBIN [114]) und FOL [48]) die Spritze von FARABEUF, welche einen Mantel aus einem schlechten Wärmeleiter (Kork) besitzt (Fig. 18). Das vordere Schlussstück des Spritzenrohres, welches mit einem kurzen Tubulus versehen ist, ist mit dem Rohre entweder fest verbunden oder abschraubbar. Die abnehmbaren Deckel sind besser zu vermeiden, da sich namentlich bei Glasspritzen die Verschraubung leicht lockert und dadurch undicht wird. Nur an der TEICHMANN'schen Injektionsspritze für Kittmasse ist ein abnehmbares Endstück unbedingt nothwendig.

Die innere, dem Kolben zugewandte Fläche des Schlussstückes ist am besten ganz flach. BECK (siehe FLESCH [45]) hat dasselbe in seiner mehr zu bakteriologischen Zwecken dienenden Mikrosyringe aushöhlen lassen, um durch einen an der Vorderfläche des Kolbens angebrachten, entsprechend gewölbten Knopf den todten Raum in der Spritze auf ein Minimum zu reduciren. Auch GEROTA hat in der von ihm angegebenen Spritze eine ähnliche Anordnung treffen lassen.

Fig. 18.



Spritze von FARABEUF.

Das hintere End- oder Deckelstück der Spritze ist stets durch ein Schraubengewinde mit dem Rohre verbunden und besitzt in der Mitte eine Oeffnung, welche die Kolbenstange durchlässt.

Kolben und Kolbenstange. Der Kolben soll in das Spritzenrohr genau hineinpassen und so dicht schliessen, dass derselbe, wenn man die Ausflussöffnung der Spritze mit einem Finger zudrückt und den Kolben dann herauszieht, wieder ganz zurückschnellt. Die Dichtung des Kolbens geschieht meist mit Leder. STRAUSS-DURCKHEIM [138]), ROBIN [114]) und BEALE [8]) geben eine genaue Beschreibung derselben, die beiden ersten auch eine Abbildung der Kolbendichtung mittels Lederscheiben, die in der Weise angeordnet sind, dass die vordere Scheibe nach vorne, die hintere nach hinten umgebogen ist. Behufs Erneuerung der Lederscheiben müssen einzelne Theile des Kolbens abnehmbar sein. Nach FREY ist der Kolben von Zeit zu Zeit mit Fett sorgfältig einzureiben, damit ein glatter und leichter Gang bewahrt bleibt. Schliesst der Kolben nach längerer Zeit nicht mehr, so muss er für einen ganzen Tag in kaltes oder für einige Minuten in heisses Wasser gebracht werden. Nach jeder Injektion ist der Kolben sorgfältig zu reinigen.

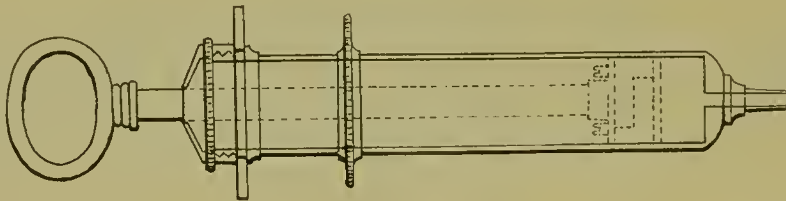
In der Mikrosyringe von BECK (siehe FLESCH) ist der Kolben mit Filz gedichtet, damit derselbe bei bakteriologischen Untersuchungen in der Hitze gut sterilisirt werden könnte. In Rücksicht auf diesen letzteren Umstand sind auch die von SCHIEFFERDECKER [126]) beschriebenen Regulatorspritzen nach Dr. OVERLACH konstruirt. Dieselben haben Asbestkolben, die der Beschreibung nach »einmal durch kurzes Eintauchen in Wasser ($^1/_4$ Minute) sehr rasch sich in brauchbaren Zustand versetzen lassen sollen, die dann aber vor allen

Dingen in diesem Zustande durch eine Schraube, die auf den Asbestkolben drückt, sich ohne Mühe so einstellen lassen sollen, dass der Stempel immer leicht und gut schliessend gleitet. Die Spritze bedarf keiner Schmierflüssigkeit«.

Am vollkommensten ist die vom Mechaniker Katsch in München angefertigte und von SCHIEFFERDECKER [126]) beschriebene Spritze mit federndem Metallkolben (Fig. 19). Die zwei Messingtheile, welche statt des Leders die Dichtung bewirken, werden durch zwei Federn im Innern des Kolbens so weit auseinander gehalten, dass der Kolben beim Einführen in das Spritzenrohr, welches ausserordentlich genau kalibrirt und geschliffen ist, der Wand vollkommen dicht anliegt. Die oben erwähnte Dichtigkeitsprobe gelingt mit dieser Spritze stets vollständig. Beim Injiciren dringt auch nicht das geringste Flüssigkeitströpfchen auf die rückwärtige Seite des Kolbens. Bei sorgfältiger Behandlung ist die Spritze in jedem Augenblick gebrauchstüchtig, versagt niemals und nutzt sich auch selbst bei häufigem Gebrauch nicht leicht ab. Nach siebenjähriger Erfahrung kann der Referent die Spritze nur aufs wärmste empfehlen. Freilich ist ihr Preis im Vergleich zu den gewöhnlichen Spritzen ein recht hoher.

Die Kolbenstange ist mit dem Kolben entweder fest vereinigt oder mittels eines Schraubengewindes verbunden. Der aus dem Spritzenrohre herausragende Theil der Stange wird am zweckmässigsten mit einem Ringe

Fig. 19.



Spritze mit federndem Metallkolben von KATSCH.

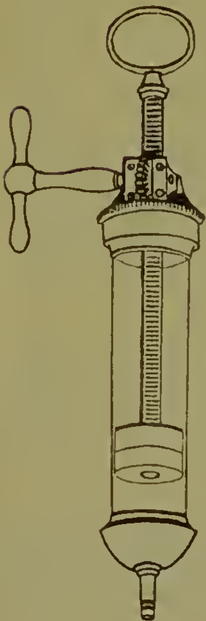
versehen, der gross genug sein muss, um den Daumen aufzunehmen. Die quergestellten Handgriffe, wie solche an den Spritzen von KLEIN [79]) und BEALE [8]) statt des Ringes vorhanden sind, sind an histologischen Injektionsspritzen unpraktisch, weil es bei denselben wesentlich darauf ankommt, dass sie mit einer Hand bedient werden könnten. In der Oeffnung des Deckelstückes darf die Kolbenstange beim Hin- und Herschieben keine Reibung erfahren.

Eine wesentlich andere Konstruktion besitzen die TEICHMANN'schen Spritzen, aus denen die zähe Kittmasse durch einfachen Fingerdruck nicht ausgetrieben werden kann. TEICHMANN [147]) liess daher die Kolbenstange mit einem engen Schraubengewinde versehen, welches in einer in das aufschraubbare hintere Deckelstück der Spritze eingelassenen Mutter läuft. Bei diesen Spritzen wird also der Kolben beim Injiciren gewissermassen in das Rohr hineingeschraubt. Die TEICHMANN'sche Spritze besteht aus Messing. DALLA ROSA [29]) hat sich eine Spritze von 5 Ccm. Inhalt mit Schraubengewinde aus Aluminium anfertigen lassen. GROSSER [59]) injicirt seine Eiweissmasse mit einer kleinen TEICHMANN'schen Spritze.

Bereits von den älteren Anatomen wurde zur Bewegung des Kolbens ein Kammradbetrieb empfohlen. An denselben war das Kammrad an dem Deckelstück der Spritze befestigt und griff mit seinen Zähnen in die gezahnte Kolbenstange ein. Während STRAUSS-DURCKHEIM [138]) derartig konstruirte Spritzen verwirft, weil man beim Injiciren den Widerstand nicht fühle, empfiehlt ROBIN [114]) dieselben für histologische Injektionen auf das wärmste (Fig. 20)

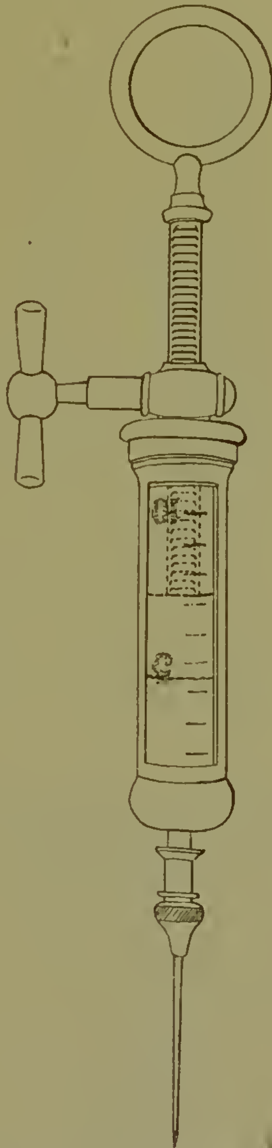
und behauptet, dass man mittels derselben erstens die Masse viel gleichmässiger in die Gefässe eintreiben könne, zweitens jeden Widerstand besser fühle, drittens die Ermüdung der Fingermuskeln viel geringer sei und man endlich die Spritze in zarten Gefässen besser still halten könne. Fol empfiehlt die Robin'sche Spritze für Anfänger, die im Injiciren noch ungeübt sind. Dalla Rosa [29]) hat die Robin'sche Spritze zu Injektionen von oberflächlichen Lymphgefässen in Anwendung gezogen, nachdem er dieselbe hatte etwas ändern lassen (Fig. 21).

Fig. 20.



Spritze mit Zahnradbetrieb nach ROBIN.

Fig. 21.



Spritze mit Zahnradbetrieb nach DALLA ROSA.

Fig. 22.



Mikrosyringe von BECK.

In ähnlicher Weise konstruirt, aber gerade entgegengesetzt wirkend ist die Mikrosyringe von Beck (siehe Flesch). Hier dient nämlich das Triebrad dazu, den Kolben aus der Spritze herauszuziehen. Wie Fig. 22 darthut, lässt sich die Spritze mit den Fingern einer Hand bedienen, indem der Kolben mit dem Mittelfinger herabgedrückt wird, hingegen ein Druck auf den am Rädchen befestigten Hebel mit dem Zeigefinger den Kolben wieder hebt. Soweit festgestellt werden konnte, liegen bisher keine Erfahrungen über die Funktionstüchtigkeit der Spritze bei histologischen Untersuchungen vor.

Kanülen und Hähne. Das Material, aus welchem die Kanülen bestehen, entspricht meistens demjenigen der Spritze, nur sehr feine Kanülen werden aus einem anderen Materiale angefertigt. Es giebt Kanülen aus Messing, Neusilber, Silber (v. Thanhoffer[148]), Platin (Teichmann[146]), Stahl und Glas. Die feinen Stahlkanülen sind entweder in Metall (Beale empfiehlt Silber) oder Hartgummi gefasst. Die älteren Anatomen verfertigten sich die Kanülen selbst, man findet daher in den älteren Techniken noch Vorschriften für die Herstellung derselben. Die älteren Kanülen hatten eine konische Form, doch sind dieselben nach Robin[114]) ungeeignet, weil sie aus den Gefässen leicht herausgleiten. Zweckmässiger sind die röhrenförmigen Kanülen, welche nach Ranvier[107]) an ihrem Ende eine kleine Verdickung und hinter derselben eine seichte Rinne für den Ligaturfaden besitzen sollen. Die behufs Befestigung des Ligaturfadens an den Kanülen seitlich angebrachten Häckchen (Robin und Legros) oder Querbalken (Klein, auch Harting) sind überflüssig, da der Ligaturfaden in der Rinne genügenden Halt hat.

Bezüglich der Beschaffenheit der Ausflussöffnung der Kanüle stimmen alle neueren Autoren darin überein, dass es behufs leichterer Einführung in die Gefässe vortheilhaft ist, wenn die Ausflussöffnung der Kanüle schräg abgeschliffen ist. Ob letztere an ihrem Ende scharf oder stumpf sein soll, hängt davon ab, ob dieselbe zu Injektionen mittels Einstich dienen oder ob dieselbe in die Gefässe eingeführt werden soll. Die Einstichkanülen müssen stets scharf sein, damit sie in das Gewebe leicht eingestossen und darin vorgeschoben werden können. Sollen die Kanülen dagegen in die Gefässe eingeführt werden, dann müssen sie eine abgestumpfte Spitze besitzen. Teichmann[146]) räth, sich die Kanülen in der entsprechenden Weise selbst abzuschleifen. Robin und Legros[94]) empfehlen, an dem spitz zulaufenden Ende der Kanülen eine kleine knopfartige Verdickung anzubringen.

Seit Monro und Lieberkühn sind die Kanülen derartig konstruirt, dass dieselben auf den konisch auslaufenden Tubulus der Spritze einfach aufgesetzt und an demselben durch Reibung festgehalten werden. Wenn Kanüle und Tubulus gut zugepasst sind, ist diese Art der Vereinigung vollkommen ausreichend und sehr bequem.

Um sich vor dem Abgleiten der Kanülen von der Spritze zu sichern, empfiehlt Strauss-Durckheim[138]), an den Kanülen seitlich kleine Oesen anzubringen. Durch dieselben werden alsdann Bindfaden gezogen, die zu grossen Oesen geschlungen werden. In letztere werden zwei Finger der Hand gesteckt, welche die Spritze hält. Weniger umständlich ist der ebenfalls von Strauss-Durckheim empfohlene, zwischen Kanüle und Tubulus angebrachte Bajonnettverschluss.

Will man eine ganz sichere Verbindung zwischen Kanüle und Tubulus haben, was zuweilen beim Arbeiten mit hohem Druck erwünscht ist, so benutze man Spritzen, bei denen die Kanülen auf den Tubulus aufgeschraubt werden. Bei den Teichmann'schen Spritzen ist dies unumgänglich nothwendig, nur sind die Kanülen hier derartig konstruirt, dass dieselben in die Oeffnung des vorderen Schlussstückes der Spritze eingeschraubt werden.

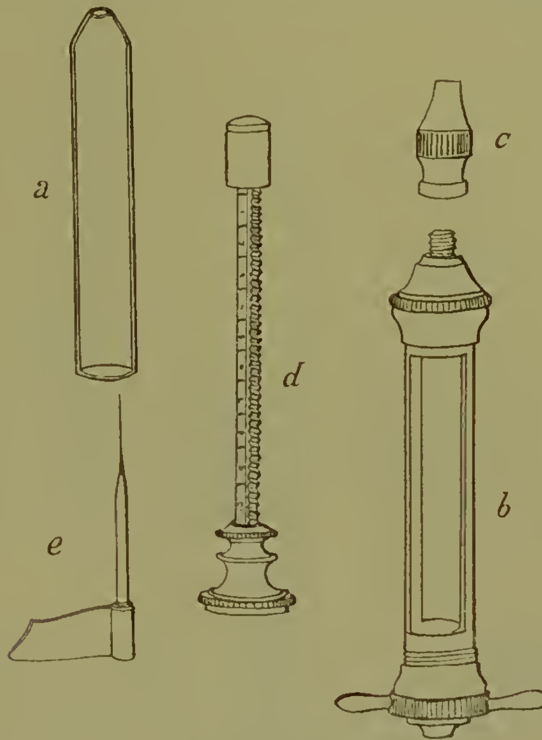
Die Glaskanülen werden mittels kurzer Kautschukröhren mit dem Tubulus verbunden (Harting[63]), v. Thanhoffer[148]), Bonnet[17]), Gerota[56]) umwickelt das dicke Ende der Glaskanüle mit einem Streifen von feinem Handschuhleder (Fig. 23 e) und schraubt es dann in den im Innern mit einem Gewinde versehenen Tubulus (Fig. 23 c) ein.

Zur Injektion der Kopfgefässe empfiehlt Sucquet eine Doppelkanüle mit einem Hahn (Fig. 24). Die Kanüle wird in die beiden Karotiden eingebunden, und dann werden beide Kopfhälften auf einmal injicirt.

Wenn vorauszusehen ist, dass bei der Injektion eines Organs mehr Masse gebraucht werden wird, als eine Spritze fasst, so schaltet man von vorneherein einen Hahn zwischen Kanüle und Spritze, der bei erneuerter Füllung der Spritze abgedreht wird, damit die Masse aus dem Gefäss nicht ausfliesst. Diese mit Hähnen versehenen Schaltstücke sind einerseits an die Kanülen, andererseits an den Tubulus so zugepasst, dass sie durch Reibung festgehalten werden.

Strauss-Durckheim räth, zwischen Kanüle und Spritze ein längeres elastisches Rohr einzuschalten, um die Spritze ungezwungener bewegen zu können, ohne dass die Bewegungen auf die eingebundene Kanüle übertragen und dadurch das Gefäss geschädigt werde. Das Gleiche empfiehlt Harting[63], und zwar noch mit der Bemerkung, dass die Kautschukröhre von ihm auf den

Fig. 23.



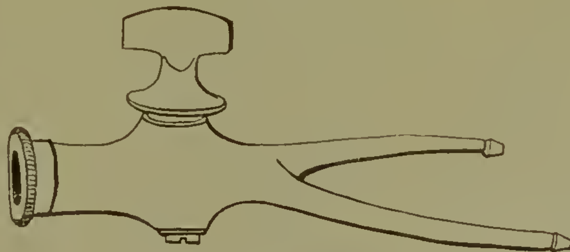
Injektionsspritze nach GEROTA.

a gläsernes Spritzenrohr, *b* Spritzenhülse, *c* Tubulus, *d* Kolbenstange, *e* Glaskanüle mit Lederstreifen zur Dichtung.

Rath von Schroeder van der Kolk hin mit Leinwand oder Kattun umwickelt werde, da dieselbe bei Anwendung von warmen Massen zu weich werde und dann leicht berste. Auch Bonnet schaltet zwischen Kanüle und Spritze eine 10—20 Ccm. lange Gummiröhre ein.

Injektionspumpe von Strauss-Durckheim. Es sei an dieser Stelle

Fig. 24.



Doppelkanüle von SUCQUET.

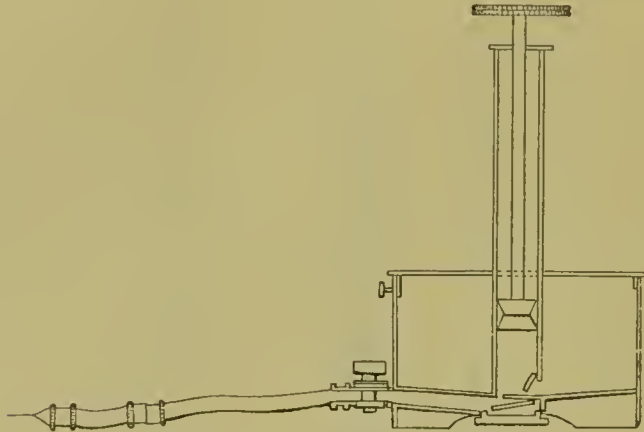
sogleich die von Strauss-Durckheim angegebene Injektionspumpe erwähnt, welche eine grössere Quantität von Masse ohne Unterbrechung zu injiciren gestattet, und bei welcher die Kanüle mittels eines längeren Schlauches mit dem Apparate verbunden ist. Wie aus Fig. 25 zu ersehen ist, wirkt der Apparat nach dem Principe der Druckpumpe. Die Injektionsmasse befindet

sich in dem Behälter, dieselbe wird von dort in das Spritzenrohr aufgesogen und dann in das Ausflussrohr durch Druck auf den Kolben eingetrieben. Ventile verhindern das Zurücktreten der Masse.

Injektionsapparate.

Apparate, bei denen der Luftdruck zur Injektion benutzt wird. Um die zahlreichen Misserfolge, wie sie bei Injektionen von Gefässen und Drüsengängen stets vorkommen, zu verringern, waren die Anatomen

Fig. 25.

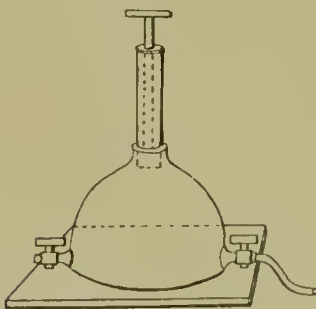


Injektionspumpe von STRAUSS-DURCKHEIM.

bereits in früheren Zeiten darauf bedacht, Injektionsapparate zu konstruiren, welche für das Gelingen der Injektionen grössere Sicherheit gewähren könnten, als es mittels der einfachen Spritzen möglich ist. Zu diesem Zwecke sind die verschiedensten Vorrichtungen ersonnen worden.

Die erste Gruppe der im folgenden aufgeführten Apparate umfasst solche, welche darauf abzielen, aus den zu injicirenden Gefässen oder Drüsengängen die Luft zu beseitigen, um damit der Masse einen leichteren und vollkommeneren Zugang zu verschaffen. Alle diese Apparate haben sich in der Technik keinen Eingang verschafft.

Fig. 26.



Luftverdünnungs-Apparat von STRAUSS-DURCKHEIM.

Die ersten diesbezüglichen Versuche entfallen bereits in das 17. Jahrhundert.

Homberg[69]) brachte das zu injicirende Organ unter den Recipienten einer Luftpumpe, befestigte das betreffende Gefäss an einer durch den Hals des Recipienten nach aussen führenden kupfernen Röhre, pumpte den Recipienten aus und goss alsdann in die Röhre eine leicht schmelzbare Metalllegirung.

Als eigentlicher Erfinder der Injektionen mit Luftdruck gilt der Leipziger Professor Schacher, der Harzmassen zur Injektion benutzte. Nach der Angabe von Lauth[84]) entspricht die Versuchsanordnung Schacher's im übrigen der obigen.

Nach der gleichen Methode wurde auch das Quecksilber zur Füllung der Gefässe benutzt, ohne dass dabei nach Lauth's eigenen Erfahrungen wesentlich bessere Resultate erzielt worden wären.

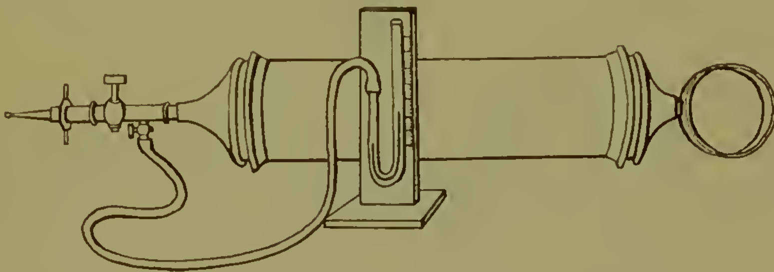
Strauss-Durckheim[135]) räth bei der Ausführung von sehr feinen Injektionen, aus den Gefässen zuvor die Luft auszupumpen. Da Luftpumpen nicht immer zur Hand und zu theuer sind, hat er sich einen einfachen Apparat zu diesem Zwecke konstruirt. Wie Fig. 26 darthut, besteht derselbe aus einer Glasglocke, welche auf einer Glasplatte ruht. Im Halse der Glocke befindet sich eine pneumatische Pumpe, und seitlich sind zwei Röhren mit Hähnen angebracht. Das Objekt wird unter die Glocke gebracht und das betreffende Gefäss mit der einen in die Injektionsmasse leitenden Röhre verbunden. Hierauf werden die Hähne geschlossen,

und die Luft aus der Glocke ausgepumpt. Oeffnet man dann den Hahn der Röhre, welche in die Masse taucht, so füllt letztere das Organ an.

Auch Ranvier [107]) benutzte noch einen ähnlichen Apparat. Statt der Glocke nahm er eine weithalsige Flasche mit doppelt durchbohrtem Korken. Durch die eine Oeffnung desselben führte er ein mit einem Hahne versehenes Trichterrohr ein, die andere verband er mit dem weiter unten erwähnten Glaskugelapparat. An die Trichterröhre wurde eine Kanülle und das zu injicirende Gefäss gebunden, das Organ in die Flasche gebracht und letztere verstopft. Nachdem der durch den Hahn abgeschlossene Trichter mit Injektionsmasse gefüllt war, wurde die Luft mittels des Glaskugelapparates verdünnt. Nach Oeffnung des Hahnes strömte dann die Masse in das Organ ein.

Apparate, bei welchen verschiedenartige Druckkräfte benutzt werden. Unter den im folgenden aufgezählten Apparaten der zweiten Gruppe sind sehr verschiedenartige Vorrichtungen zusammengestellt, welche sämmtlich den Zweck verfolgen, mittels eines möglichst gleichmässigen und mehr oder weniger kontrollirbaren Druckes die Gefässe zu injiciren. Mit Ausnahme des Apparates von Rutherford wird bei allen übrigen der Druck durch mechanische Kräfte hervorgebracht und zwar entweder durch direkte Kompression der Injektionsmasse oder durch Kompression der über der Masse befindlichen Luftschicht. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass einzelne dieser Apparate, wie derjenige Lacaze-Duthier's und Ranviers' recht brauchbar sind und in gewissen Fällen Besseres leisten als Injektionsspritzen, doch haben diese Apparate sowie alle übrigen trotzdem keine ausgedehnte Anwendung erfahren, wenigstens nicht in dem Masse wie die in dem nächsten Abschnitte aufgeführten Apparate mit konstantem Druck.

Fig. 27.



Spritze von Rutherford mit Manometer.

Rutherford [118]) hat, um auch bei einer einfachen Injektionsspritze die Intensität des Druckes kontrolliren zu können, folgende Einrichtung getroffen: An dem mit einem Hahne versehenen Schaltstück, welches zwischen Spritze und Kanüle eingefügt wird, ist seitlich ein kurzes mit einem Hahne verschliessbares Röhrchen angebracht. Dasselbe wird mittels eines Kautschukschlauches mit einem Quecksilbermanometer verbunden (Fig. 27). Sobald injicirt wird, dringt die Masse in das zum Manometer führende Rohr ein und komprimirt die darin befindliche Luft, welche ihrerseits auf das Quecksilber des Manometers einwirkt.

Davies [30]) suchte einen gleichmässigen Druck in der Weise zu erzielen, dass er eine einfache Injektionsspritze auf einer schiefen Ebene fixirte und den Kolben durch entsprechend befestigte und mit Gewichten beschwerte Darmsaiten in das Spritzenrohr hineinziehen liess.

van Wijhe [153]) empfiehlt für Injektionen mit Teichmann'scher Masse, welche mit der Spritze ausgeführt mühsam und langdauernd sind, einen automatischen Apparat von folgender Konstruktion: Die Spritze steht mit der Ausflussöffnung nach unten gerichtet senkrecht in einem Gestell. Die Kolbenstange ist an ihrem Ende so geformt, dass man auf dasselbe schwere Eisenplatten auflegen kann. An dem Kolben ist ein Faden befestigt, der über eine Rolle mit einem Zeiger läuft. An der Bewegung des letzteren lässt sich ersehen, wie viel Masse und mit welcher Schnelligkeit dieselbe abläuft. Ueberdies ist an der Ausflussröhre der Spritze noch ein Manometer angebracht, welches die Druckintensität anzeigt.

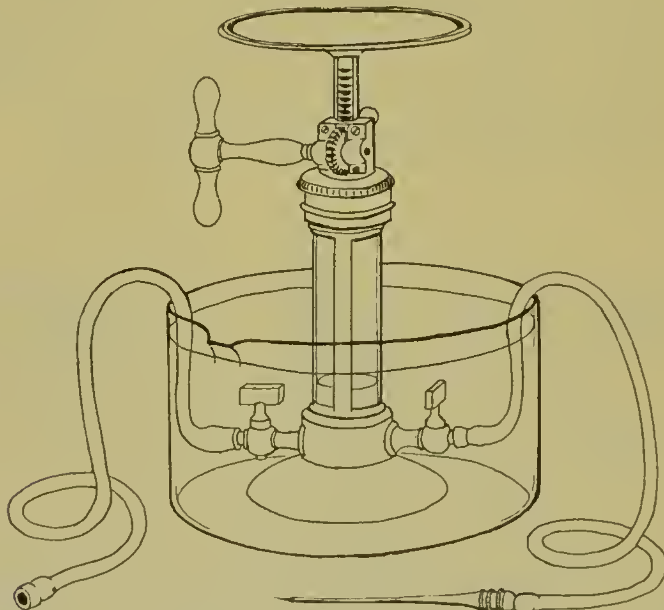
Lacaze-Duthiers [82]) hat einen ähnlichen, speciell für feine Injektionen bestimmten Apparat konstruiren lassen (Fig. 28). Derselbe besteht aus einem aufrecht stehenden Glascylinder mit einem Fuss. Am unteren Ende des Cylinders geht jederseits eine mit einem Hahn versehene kurze Röhre ab, welche mit einem längeren Schlauch versehen ist. In dem Cylinder bewegt sich wie bei einer Spritze ein Kolben, welcher mittels einer am oberen Ende des Cylinders angebrachten Cremaillère gehoben werden kann. Das Hinabstossen des-

selben geschieht entweder durch ein über das Ende der Kolbenstange hinübergespanntes starkes Gummiband oder auch durch Gewichte, welche auf das tellerförmig geformte Kolbenende aufgelegt werden (Fig. 26). Behufs Füllung des Apparates wird der eine Hahn geschlossen und der am anderen angebrachte Gummischlauch in die Injektionsmasse geleitet. Hierauf wird durch Drehen an der Cremaillère der Kolben gehoben und der Cylinder mit Masse angefüllt. Dann schliesst man den Hahn, öffnet den anderen, durch welchen die Masse durch den Schlauch und die Kanüle in das Gefäss fliesst, und legt Gewichte auf die Platte auf. Benutzt man warmflüssige Massen, so wird der ganze Apparat in ein Becken mit warmem Wasser gestellt.

Auf dem gleichen Principe, aber mit Federkraft getrieben, beruht der Irrigator Eguisier's (Fig. 29), welcher ursprünglich zu anderen Zwecken diente. Harting [63]) sagt, er habe mehrfach gelungene Injektionen mit demselben ausgeführt, welcher sich leichter handhaben lasse als der Ludwig'sche Apparat (siehe unten). Robin [114]) dagegen kann den Irrigator nicht empfehlen, weil man seine Druckkraft nicht reguliren könne.

Bei den im folgenden aufgezählten Apparaten wird die Injektionsmasse durch komprimirte Luft ausgetrieben. Zu denselben gehört in erster Linie der Apparat von Dermott [31]) (Fig. 30). Derselbe besteht aus einer Kondensationspumpe für die Luft und einem metallenen Behälter. Beide sind mit einander durch ein kurzes Rohr mit einem Hahn verbunden. Aus dem Behälter führt ein ebenfalls mit einem Hahne versehenes Rohr nach aussen, an welchem

Fig. 28.



Injektionsapparat von LACAZE-DUTHIERS.

mittels eines elastischen Schlauches die Kanüle befestigt wird. Zum Gebrauche wird das Gefäss mit Injektionsmasse gefüllt, der Hahn des Ausflussrohres geschlossen und dann die Luft mittels der Pumpe komprimirt. Hierauf schliesst man den ersten Hahn und öffnet den anderen, um die Masse ausfliessen zu lassen.

In der gleichen Weise wirkt der Apparat von Stein [134]), Fig. 31, bei welchem die Pumpe durch zwei Gummiballons und der Behälter durch eine Flasche mit doppelt durchbohrten Korken ersetzt ist. Für Injektionen mit warmen Massen wird die Flasche in ein Gefäss mit Wasser gestellt, welches durch eine darunter befindliche Flamme bis zu der nöthigen Temperatur erwärmt wird.

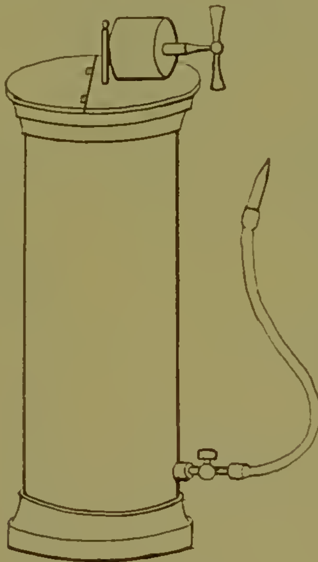
Eines gleichen Apparates bediente sich Mayer [95]) bei der Injektion von Fischen. Mittels doppelter Gummibälle wurde die Luft in einem mit einem Manometer versehenen grossen Glasgefässe von etwa 10 Liter Inhalt bis zur gewünschten Höhe komprimirt.

Beale [8]) empfiehlt zu dem gleichen Zwecke als Druckvorrichtung eine Gummiblase, welche zwischen 2 Brettern entweder durch Gewichte oder Sprungfedern zusammengedrückt wird.

Ranvier [107]) benutzt als Druckvorrichtung bei seinem in Fig. 32 abgebildeten Apparate eine Spritze. (In dem von Thanhoffer [148]) beschriebenen und abgebildeten Ranvier'schen Apparate ist die Spritze durch einen Gummiball ersetzt.) Ranvier empfiehlt seinen Apparat ganz besonders für Injektionsflüssigkeiten, welche das Metall der Spritze angreifen. Derselbe besteht aus dem Mittelstück einer grossen Pipette, deren oberer Theil durch einen Gummi-

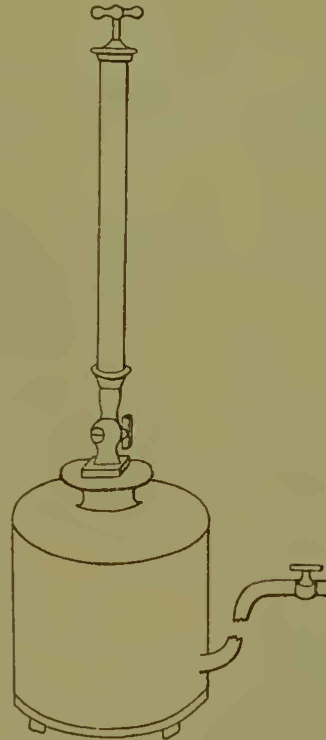
schlauch mit der Spritze in Verbindung steht, während an dem unteren Rohre ein mit einer Kanüle versehener Schlauch angebracht ist. Die Pipette wird mit der betreffenden Injektionsmasse gefüllt, die dann durch Vorstossen des Spritzenkolbens ausgetrieben wird.

Fig. 29.



Irrigator ÉGUISIER'S.

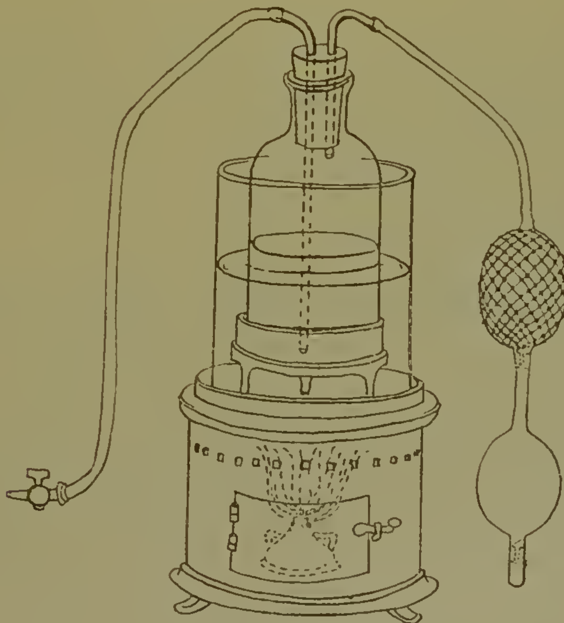
Fig. 30.



Apparat von DERMOTT.

Hydrostatische Druckapparate. Fast sämmtlichen Apparaten, welche nunmehr in der dritten Gruppe zusammengefasst werden, liegt ein

Fig. 31.

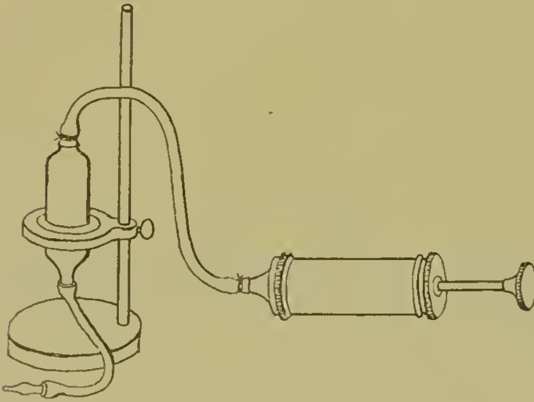


Apparat von STEIN.

einheitliches Princip zugrunde, indem bei allen die gleichen Druckkräfte zur Anwendung gelangen. Dieselben verfolgen das eine Ziel, unter einem möglichst

konstant bleibenden und messbaren Drucke die Gefässe mit Injektionsmasse zu füllen. Die Konstruktion dieser Apparate ist von den Physiologen angeregt worden, welche von der richtigen Ueberlegung ausgingen, dass man behufs künstlicher Füllung der Gefässe die natürlichen Bedingungen, welche durch die Blutcirkulation gegeben sind, nachahmen müsse. Da es weder mit der Spritze noch mit den meisten bisher besprochenen Apparaten möglich sei, den Druck während einer Injektion konstant zu erhalten oder denselben zu kontrolliren, so müssen Apparate konstruirt werden, welche nicht nur diese beiden Bedingungen erfüllten, sondern ferner noch gestatteten, den Druck je nach Bedarf zu verändern, d. h. zu steigern oder zu vermindern und die Injektion mit grösserer oder geringerer Schnelligkeit vornehmen zu lassen. Das von den Physiologen erstrebte Ziel ist im Laufe der Zeit auch thatsächlich erreicht worden. Aus den ersten noch sehr unvollkommenen Anfängen sind durch Anbringung von verschiedenen Modifikationen schliesslich recht komplicirte Apparate

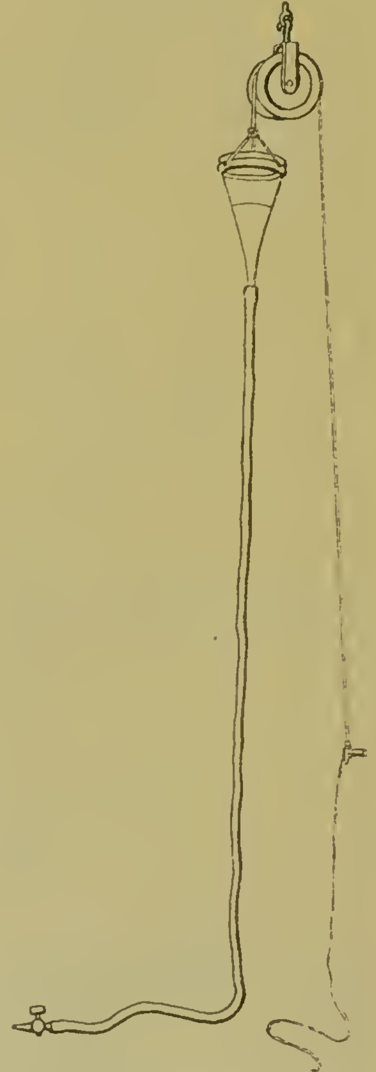
Fig. 32.



Apparat von RANVIER.

entstanden, die den weitgehenden Anforderungen entsprachen. Die Apparate sind eine Zeit lang besonders von LUDWIG und seiner Schule vielfach benutzt worden, doch haben sie sich trotzdem nicht eingebürgert, weil ihre Handhabung nicht so bequem war wie die der Spritze und letztere den Anatomen bei ihren Untersuchungen meist vollkommen ausreichte.

Fig. 33.



Irrigator von ROBIN.

HALES[61]) war der erste, welcher zur Injektion der Gefässe statt der Spritze einen Apparat benutzte. Derselbe bestand aus einer kupfernen Röhre, welche mit einem Ende in das Gefäss eingebunden wurde, mit dem anderen mit einem $4^1/_2-5^1/_2$ Fuss langen Musketenlauf vereinigt wurde. Die Injektionsmasse wurde in die Röhre eingefüllt und floss infolge des eigenen Gewichtes in die Gefässe. War der Flüssigkeitsdruck noch zu gering, so wurde noch ein zweites Rohr auf das erste aufgesetzt, so dass beide zusammen eine Höhe von etwa 10 Fuss erreichten.

Aehnliche einfache Apparate sind auch in der mikroskopischen Technik zur Anwendung gelangt. Dieselben können jedoch nur in beschränktem Masse verwendet werden, da sie nur zu leicht- und kaltflüssigen Injektionsmassen dienen.

ROBIN[114]) giebt den in Fig. 33 abgebildeten Apparat an. Derselbe besteht aus einem 5 Meter langen Schlauche, dessen eines Ende mit einem Hahne und der Kanüle, das andere mit einem Trichter versehen ist. Letzterer kann mittels einer über eine Rolle geschlagenen

Schnur nach Belieben gehoben und in der nöthigen Höhe fixirt werden. Die in den Trichter eingefüllte Masse fliesst vermöge der eigenen Schwere in das zu injicirende Gefäss.

Ranvier[107]) empfiehlt diese Vorrichtung zur Injektion ganzer Organe, deren Cirkulation vom pathologischen Standpunkte besonderes Interesse bieten könnte; doch genügt nach seiner Meinung bereits ein Schlauch von etwa $1\frac{1}{2}$ Meter Länge.

Auch Fol[48]) empfiehlt den gleichen Apparat.

Beale[8]) stellt ein mit Injektionsmasse gefülltes Gefäss 3—4 Fuss hoch über dem Operationstisch auf und leitet daraus die Flüssigkeit mittels eines Gummischlauches ab.

Beale[8]), Frey[50]) und Dippel[32]) empfehlen statt des Gummischlauches mit Trichter eine lange Glasröhre. Nach Beale soll die Länge der Röhre 3—4 Fuss betragen; Frey und Dippel sprechen nur von einer an einem passenden Stativ angebrachten graduirten Trichterröhre, Fig. 34, an deren unterem Ende ein mit einem Hahne und einer Kanüle versehener Gummischlauch angebracht wird.

Für die im folgenden angeführten Apparate hat der von Ludwig zusammengestellte allgemein bekannte Apparat zum Vorbilde gedient, obwohl bereits vor Ludwig eine ganz ähnliche und auf dem gleichen Principe beruhende Vorrichtung von Strauss-Durckheim konstruirt und unter dem Namen »Injectoir« beschrieben und abgebildet worden war.

Fig. 34.

Apparat von Frey.

Fig. 35.

Injectoir von Strauss-Durckheim.

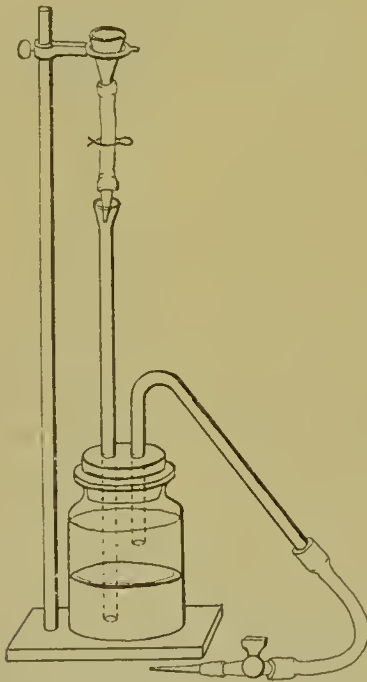
Der Injectoir (Fig. 35) besteht aus einem $\frac{1}{10}$ Liter fassenden Gefäss mit breitem Halse, welcher mit einem metallenen Ringe montirt und mit einer doppelt durchbohrten metallenen und mit einem Schraubengewinde versehenen Platte verschlossen wird. Durch die eine Oeffnung der Platte führt eine lange, aus mehreren Theilen zusammengesetzte Röhre. Ihr oberes Ende ist mit einem Trichter versehen, das untere reicht bis auf den Boden des Gefässes. Durch die zweite Oeffnung der Platte führt eine kurze, rechtwinklig nach aussen abgebogene Röhre, welche mit einem Hahne versehen ist. An letzterer wird ein Gummischlauch mit einer Kanüle am Ende befestigt. An zwei sich um das lange Rohr schlingenden Fäden kann der Apparat in beliebiger Höhe aufgehängt werden. Zum Gebrauche wird das Gefäss mit Injektionsmasse gefüllt und dann durch den Trichter Quecksilber eingegossen, durch welches die Masse komprimirt und in die kurze Röhre hineingetrieben wird.

Der Ludwig'sche Apparat, dessen Beschreibung Ludwig und Tomsa[90]), Mac-Gillavry[91]) und Toldt[151]) geben, hat vor dem Strauss-Durckheim'schen den Vorzug, dass sich derselbe aus den in jedem Laboratorium vorhandenen technischen Hilfsmitteln jederzeit schnell zusammenstellen lässt. Derselbe besteht, wie aus Fig. 36 ersichtlich ist, aus einer weithalsigen Flasche mit doppelt durchbohrten Korken. Durch die Bohrlöcher führen zwei Glasröhren, von denen die eine, senkrechte, bis zum Boden des Gefässes reicht und über dem Korken mittels eines kurzen Kautschukschlauches mit einer zweiten ebenfalls senkrecht stehenden verbunden

wird. Am Kautschukschlauch befindet sich eine Schraubenklemme, durch welche das Lumen beider Röhrenstücke nach Belieben abgeschlossen werden kann. Dieser Theil des Apparates ist später in der in Fig. 36 dargestellten Weise umgeändert worden, indem über der Röhre ein mit einem Kautschukschlauch versehener Trichter angebracht ist, welcher mittels der Schraubenklemme abgeschlossen werden kann und ein feines Ausflussröhrchen besitzt. Aus dem zweiten Bohrloche des Flaschenkorkes ragt eine winkelig abgebogene Röhre. Der eine Schenkel derselben endigt unmittelbar unter dem Korke, der andere dient zur Befestigung der Kanüle. Zum Gebrauche wird zuerst etwas Quecksilber in das Gefäss gegossen, dasselbe dann mit Injektionsmasse gefüllt und fest verschlossen. Hierauf wird in die Trichterröhre Quecksilber nachgegossen, bis sich die Injektionsmasse in Bewegung setzt. Da Ludwig und Tomsa mit warmflüssigen Leimmassen injicirten, so wurde der ganze Apparat in ein mit Wasser gefülltes Blechgefäss gestellt, welches durch eine untergestellte Lampe auf höchstens 52° C. erwärmt wurde. Der Druck wurde durch Nachfüllen von Quecksilber konstant erhalten.

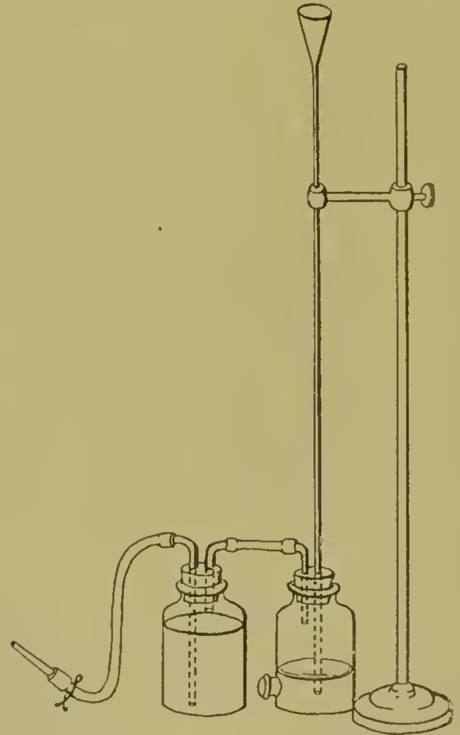
Alle Autoren, welche mit dem Ludwig'schen Apparate Injektionsversuche angestellt haben, machen demselben die gleichen Vorwürfe, dass nämlich erstens die Injektionsmasse mit dem Quecksilber in unmittelbare Berührung kommt und dass man ferner fortwährend Quecksilber nachgiessen muss, um den Druck konstant zu erhalten. Durch das Nachgiessen

Fig. 36.



Injektionsapparat von LUDWIG.

Fig. 37.



Der von HERING modificirte LUDWIG'sche Apparat.

entstehen jedoch bei bestehendem niedrigen Druck momentane ziemlich bedeutende Drucksteigerungen, welche auf die Injektion sehr nachtheilig wirken.

Letzteren Uebelstand suchte Mac-Gillavry[91]) dadurch zu beseitigen, dass er die mit einem Trichter versehene Röhre viermal rechtwinklig umbog, so dass sie ausserhalb der Flasche unter die Verlängerung des Quecksilberniveaus herab und dann wieder emporstieg, in Gestalt etwa eines Manometers.

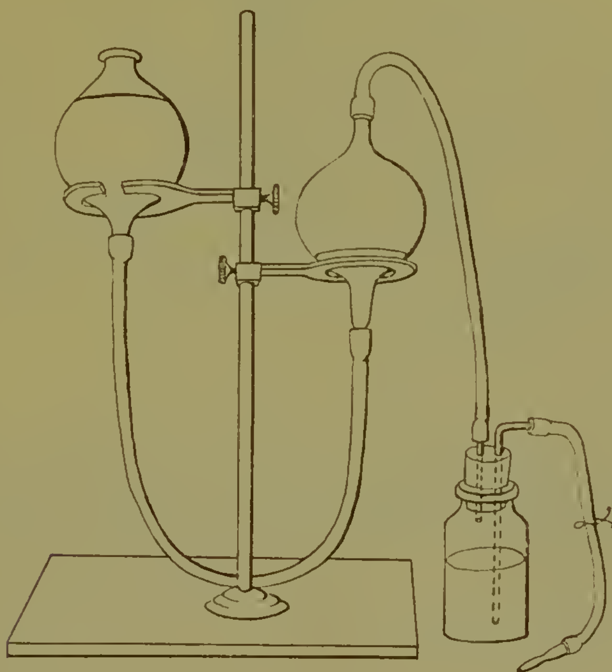
Um das Quecksilber mit der Injektionsmasse nicht in unmittelbare Berührung kommen zu lassen und um ferner die Druckschwankungen noch mehr auszugleichen, führte Hering nach Toldt's Angabe die Verbesserung ein, dass er eine zweite Flasche als Windflasche in den Ludwig'schen Apparat einschaltete und zur Erzeugung des Druckes Quecksilber oder Wasser benutzte. Die Anwendung des Apparates ist aus Fig. 37 ersichtlich und bedarf daher keiner näheren Beschreibung.

Derselbe Apparat wurde zum Gebrauche noch wesentlich handlicher gemacht durch Robin[114]), namentlich aber durch Ranvier[107]) und Fol.[48]) Statt des Trichters und der Windflasche benutzten die Autoren zwei gleich grosse Glaskugeln und verbanden sie unter einander mittels eines Gummirohres. Ausserdem wurde die eine Glaskugel noch mittels eines Gummirohres mit der die Injektionsmasse enthaltenden Flasche vereinigt (Fig. 38). Die erste Glaskugel fungirt als Quecksilberreservoir, die zweite als Windkessel. Wird die erste höher

gestellt, so fliesst das Quecksilber aus derselben in die zweite über und komprimirt die Luft, welche ihrerseits die Injektionsmasse austreibt. Fol[48]) empfiehlt statt des Quecksilbers koncentrirte Chlorcalciumlösung zur Füllung der Kugeln.

Nach Toldt's Angaben wurde Hering durch den von ihm konstruirten Apparat trotzdem nicht zufriedengestellt, weil der Druck in demselben während der ganzen Dauer der Injektion nicht konstant erhalten werden konnte. Daher traf Hering die Einrichtung, dass die die Kompression bewirkende Flüssigkeit aus einer Mariott'schen Flasche abfloss, und dass die Röhre, welche zum Windkessel führte, nicht bis auf den Boden desselben reichte und unter die Flüssigkeit tauchte, sondern dicht unter dem Korken der Flasche nach oben umgebogen mündete. Die ausströmende Flüssigkeit fällt daher tropfenweise auf den Boden des Windkessels herab. Hierdurch wird eine bedeutende Konstanz des Druckes erreicht, welchen man an dem am Windkessel angebrachten Manometer leicht ablesen kann. Doch auch dieser Apparat konnte keine allgemeine Anwendung finden, weil, falls man als Druckkraft Wasser benutzen wollte, man einen 5 Meter hohen Raum zur Verfügung haben müsste, um einen Druck von 300 Mm. Quecksilber zu erhalten. Hering konstruirte daher einen auf denselben Principien beruhenden, aber mit Quecksilber arbeitenden Apparat, »welcher den gestellten Anforderungen bezüglich der Abmessung und Konstanz des Druckes, wie der Bequemlichkeit und Leichtigkeit der Handhabung Genüge leistet«.* Derselbe stellt eine Kombination des

Fig. 38.



Ranvier's Apparat.

soeben beschriebenen Apparates und derjenigen von Robin, Ranvier und Fol dar (Fig. 39). Der Apparat besteht im wesentlichen aus zwei Glaskugeln von je 8 Cm. Durchmesser, deren Lichtungen mittels einer 32 Cm. langen Glasröhre in Verbindung stehen. Beide Kugeln nebst dem Rohre sind in einen Rahmen von Eisenblech gefasst, welcher um eine durch seinen Mittelpunkt gehende Metallaxe drehbar ist und in jeder beliebigen Stellung durch eine einfache Klemmvorrichtung fixirt werden kann. Das Ganze wird von einem auf einem Fussbrette senkrecht stehenden Stative getragen. Die eine Kugel wird mit Quecksilber gefüllt, und je nachdem dieselbe höher oder niedriger gestellt wird, wird der Druck erhöht oder vermindert. Die Höhe des Druckes, in Millimetern Quecksilber ausgedrückt, ist auf einem mit dem Rahmen der Kugeln drehbaren Metallbogen verzeichnet und kann an der vorderen Seite der Klemme, welche den Rahmen fixirt, abgelesen werden. Die Graduirung ist empirisch festgestellt. Hinsichtlich der Einzelheiten der Konstruktion muss auf das Original verwiesen werden, da dieselben hier zu viel Raum beanspruchen würden.

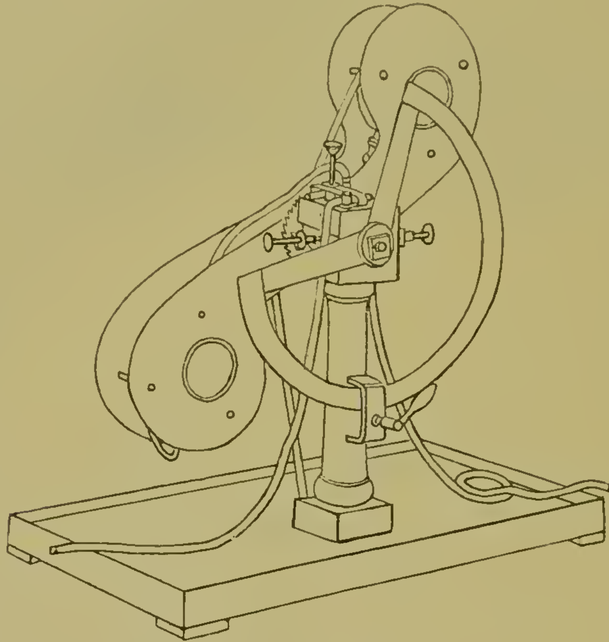
Ranvier[107]) hat den Hering'schen Apparat in einer noch etwas modificirten Form in Anwendung gezogen. Da nämlich Ranvier beobachtet hatte, dass abwechselnde Druckschwan-

* Hering erwähnt den Apparat in einer seiner Arbeiten, behält sich aber die genauere Beschreibung desselben für später vor. Diese Beschreibung ist dann von Toldt[131]) geliefert worden.

kungen das Eindringen der Injektionsmasse in die Gefässe fördern, so suchte er dieselben dadurch zu erzeugen, dass er an dem Hering'schen Apparate die beiden Glaskugeln auf einem Brettchen befestigte und dasselbe durch ein excentrisches Rad in wippende Bewegungen versetzte. Die dadurch erzeugten Schwingungen des Quecksilbers riefen die gewünschten Druckschwankungen hervor. Auch dieser Apparat hat keine weitere Verbreitung gefunden.

Obwohl die Verwendung des Wasserdruckes nach der Ansicht von Hering in den Injektionsapparaten nicht zweckmässig ist, sind dennoch mit Wasserdruck arbeitende Apparate von verschiedenen Seiten angewandt und empfohlen worden.

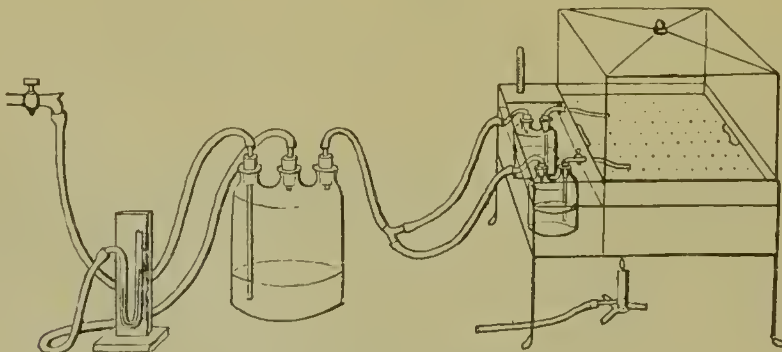
Fig. 39.



Apparat von HERING.

In der im Jahre 1866 erschienenen neuen Auflage seines Werkes hat Harting einen Injektionsapparat beschrieben und abgebildet, welcher auf demselben Principe beruht wie der von Hering modificirte Ludwig'sche (Fig. 35), nur dass der 2—3 Liter fassende Windkessel massiv aus starkem Bleche angefertigt und mit einem Standrohre und Manometer

Fig. 40.



Injektionsapparat von RUTHERFORD.

versehen ist. Das auf den Boden des Kessels hinabreichende Rohr wird mit der Wasserleitung, das vom Deckel abgehende mit einer die Injektionsmasse enthaltenden Wulff'schen Flasche in Verbindung gesetzt. Durch an beiden Rohren angebrachte Hähne wird der Druck regulirt.

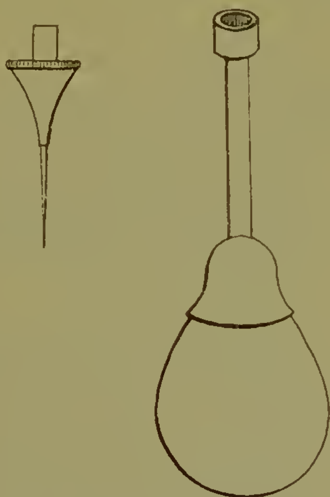
Eine ähnliche Anordnung zeigt der in Fig. 40 abgebildete Apparat von Rutherford [115]), dem nur noch die Vorrichtung zum Vorwärmen der Präparate beigefügt ist.

Vom Mechaniker Jung in Heidelberg ist nach dem Berichte von Schiefferdecker [126]) ein grosser Apparat nach dem Hering-Toldt'schen Modell angefertigt worden, welcher zur

Erzeugung des Druckes an die Wasserleitung angefügt wird. Soweit dem Referenten bekannt ist, findet sich der Apparat in verschiedenen anatomischen Instituten.

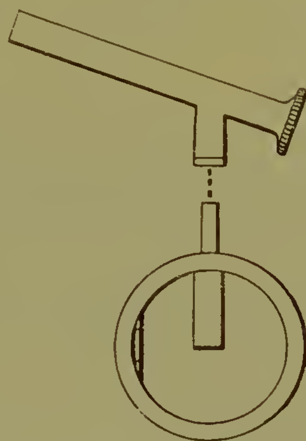
Schliesslich hat v. Ebner [37]), später auch Ranvier einen Apparat beschrieben, der sich dem zweiten Hering'schen sehr nähert. Als Windkessel dient eine am Boden tubulirte Flasche von etwa 700 Ccm. Inhalt. Im Halse der Flasche befindet sich ein Kork mit 3 Bohrungen. Von den drei durch dieselben führenden Röhren leitet die eine zu der die Injektionsmasse enthaltenden Flasche, die zweite ist mit einem Hahne geschlossen und die dritte führt zu einem Manometer. Als Druckgefäss dient ein grosser Trichter, der mittels eines langen Schlauches mit dem Tubulus am Boden der Windflasche in Verbindung steht. Der Trichter ist an einer Schnur befestigt und kann in beliebiger Höhe fixirt werden. Der Apparat arbeitet stets mit derselben Wassermenge, weil, wenn alles Wasser aus dem Trichter in die Windflasche eingelaufen ist, der Trichter nur unter das Niveau des Windkessels gesenkt und die entsprechenden Hähne geschlossen, respektive geöffnet zu werden brauchen, um das Wasser zurückfliessen zu lassen. Da nach v. Ebner das Quantum der verbrauchten Injektionsmasse im Verhältniss zur drückenden Wassermasse sehr klein ist, so dass sich der Druck während einer Injektion nicht merklich ändert, so ist die Anwendung komplicirter Apparate, wie z. B. des Hering'schen, unnöthig.

Fig. 41.



Injektionsbirne nebst Kanüle von Strauss-Durckheim.

Fig. 42.





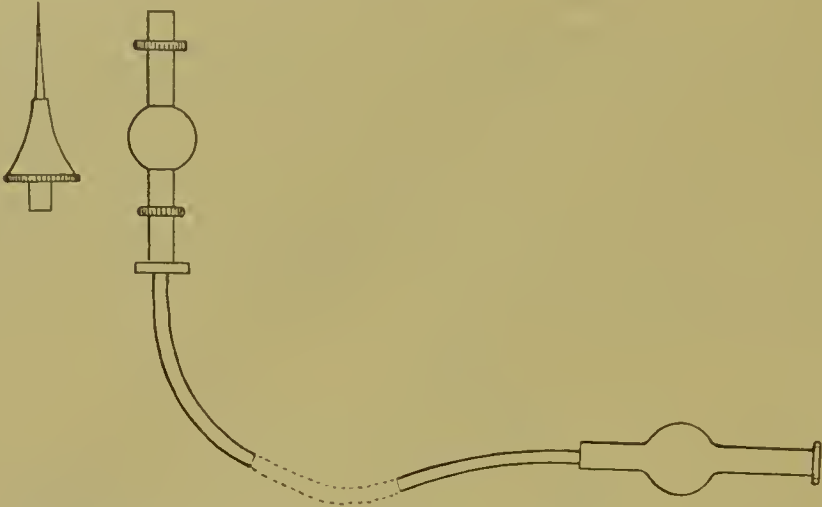
Clysette von Strauss-Durckheim, oben geöffnet, Teller von innen gesehen, unten geschlossen in Seitenansicht.

Kleine Injektionsapparate. Ausser den Spritzen und grossen Apparaten sind in der Injektionstechnik noch zahlreiche kleine Vorrichtungen zur Verwendung gelangt, welche sich besonders beim Injiciren von sehr zarten Objekten, niederen Thieren und Embryonen bewährt haben. Die Glaspipetten und die Injektionskanüle von Lacaze-Duthiers sind für diese feinen Arbeiten am meisten zu empfehlen, und zwar besonders in den Fällen, wo von einem regelrechten Einführen und Einbinden einer Kanüle wegen der Zartheit der Gefässe abgesehen werden muss. In solchen Fällen wird eines der genannten Instrumente in das betreffende Gefäss eingestochen und die Masse durch Blasen mit dem Munde eingetrieben.

Strauss-Durckheim [138]) empfiehlt für feinere Injektionen eine Kautschukbirne von etwa 3 Ccm. Inhalt und etwa 2 Mm. Wanddicke. Das zugespitzte Ende derselben ist mit einer 5,5 Ccm. langen Röhre versehen, auf welche eine stählerne Kanüle aufgesetzt wird. Die Birne wird zum Gebrauche mit Injektionsmasse gefüllt, die Kanüle aufgesetzt, darauf wird in das Gefäss eingestochen und die Masse durch Druck auf die Birne ausgetrieben (Fig. 41). Da man nur selten so kleine Gummiballons erhält und ihre Wand meist zu dünn ist, um beim Nachlassen des Druckes sich wieder auszubuchten, da ferner die Reinigung des Appa-

rates schwierig ist und der Kautschuk überdies von Fettkörpern und ätherischen Oelen angegriffen wird, konstruirte Strauss-Durckheim einen anderen Apparat, welchen er »Clysette«

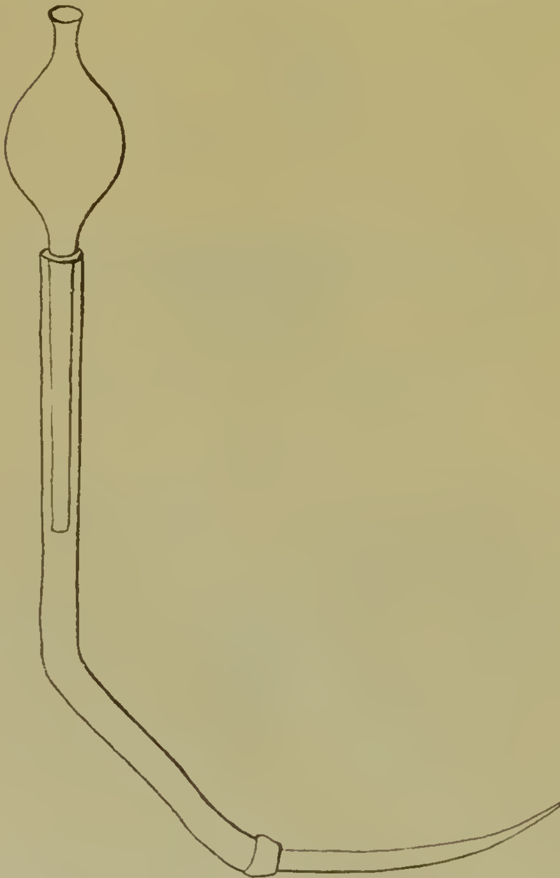
Fig. 43.



Pipette zur Injektion nebst Kanüle von STRAUSS-DURCKHEIM.

nennt (Fig. 42). Derselbe hat die Form eines kleinen Blasebalgs und besteht aus 2 flachen Metalltellerchen von etwa 3,5 Cm. Durchmesser, welche durch ein Charnier mit ihren konkaven Flächen miteinander vereinigt werden. Von der Mitte des einen Tellers geht auf der Innenfläche ein Röhrchen aus, auf welches ein zweites dichotomisches Röhrchen aufgesetzt wird. Der gerade verlaufende Theil des letzteren hat eine Länge von 5 Cm. und ist an einem Ende mit einer Kapsel verschliessbar, während das andere zur Aufnahme der Kanüle dient. Die beiden Teller werden durch einen über ihre Ränder laufenden und an diese angebundenen gefalteten Lederstreifen miteinander verbunden. Die in den kleinen Apparat eingefüllte Injektionsmasse wird durch Kompression der Teller ausgetrieben. Der Apparat ist leicht zu reinigen, weil er sich in seine einzelnen Bestandtheile leicht zerlegen lässt.

Fig. 44.



Injektionspipette von HARTING.

Zur Injektion von Gasteropoden bediente sich Strauss-Durckheim einer noch einfacheren Vorrichtung (Fig. 43). Den wesentlichsten Bestandtheil bildet eine Pipette, deren Glaskugel etwa 12 Mm. Durchmesser besitzt. Die von der Kugel abgehenden Glasröhren sind mit Metallröhren montirt, von denen die eine zur Aufnahme der Kanüle dient, die andere mit einem kurzen Gummischlauche versehen wird. An letzterem wird am anderen Ende eine einfache Glaspipette angesetzt, deren freies Ende mit einem bequem im Munde zu haltenden Mundstücke versehen ist. Die Erweiterung dieser zweiten Pipette dient zum Auffangen des abfliessenden Speichels. Zur Injektion wird die Masse in die erste Pipette aufgezogen und nach Einführung der Kanüle durch Blasen mit dem Munde ausgetrieben.

Noch einfacher sind die von Harting[63]) für ähnliche Zwecke empfohlenen Vorrichtungen. Die eine besteht aus einer Glaspipette, deren Ende gebogen und in ein feines

Röhrchen ausgezogen ist. Bequemer ist jedoch der in Fig. 44 abgebildete Apparat, der aus einer kurzen Pipette einer Gummiröhre und einem gebogenen und fein ausgezogenen Röhrchen besteht.

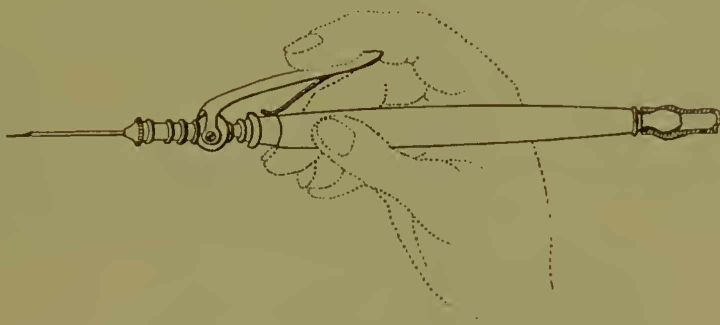
Auch Wertheim [161]) benutzt feine, an einem Ende ausgezogene Glasröhrchen, deren anderes Ende an einem $^1/_2$ Meter langen, mit einem Mundstücke versehenen Gummischlauche befestigt ist.

Von Rutherford [118]) wird zur Injektion von Lymphgefässen eine fein ausgezogene Glasröhre empfohlen, auf welche ein kurzer, am freien Ende zugebundener Gummischlauch aufgesetzt ist. Siehe auch Moseley. [98])

Emery [89]) bedient sich zur Injektion von Fischen einer Pipette mit Gummihütchen.

Am bequemsten dürfte wohl von allen diesen Apparaten der von Lacaze-Duthiers [82]) angegebene Kanülenhalter mit automatischem Verschlusse sein. Der Halter besteht aus einer

Fig. 45.



Kanülenhalter von LACAZE-DUTHIERS.

Metallröhre, welche durch einen mit einer Feder versehenen Hahn geschlossen wird. Die Röhre wird mit Injektionsmasse gefüllt, die Kanüle aufgesetzt und dann in das Gefäss eingestochen. Ein leichter Druck auf den Hahn lässt die Masse ausfliessen (Fig. 45).

Hilfsapparate und -Instrumente zur Injektion.

Hilfsapparate. Neben den im vorhergehenden aufgeführten Spritzen und grösseren und kleineren Injektionsapparaten werden von den Autoren noch verschiedene Hilfsvorrichtungen empfohlen, welche die Injektion erleichtern oder bequemer gestalten sollen. Zu denselben gehören in erster Linie Apparate, welche zur Erwärmung der Massen und zur Vorwärmung der zu injicirenden Theile dienen. Die Apparate sind zu diesen Zwecken unzweifelhaft sehr geeignet konstruirt und leisten jedenfalls sehr gute Dienste, sind aber in einem Injektionsinstrumentarium nicht unumgänglich nothwendig, weil dieselben sich gegebenen Falls aus den in jedem Laboratorium vorhandenen technischen Hilfsmitteln leicht ersetzen lassen.

Beale [8]) empfiehlt zum Verflüssigen und Warmhalten der Leim- und Gelatinemassen einen Satz von 4 kupfernen Kännchen. An jedem derselben ist aussen in einer gewissen Höhe ein scheibenförmiger, flacher Ring angebracht. Ferner gehört hierzu ein grösseres Wasserbad, welches durch eine mit 4 Oeffnungen versehene Deckplatte geschlossen ist. Die Kännchen werden in die Oeffnungen hineingesetzt und stützen sich mit ihrem Ringe auf die Deckplatte, ohne bis an den Boden des Wasserbades zu reichen.

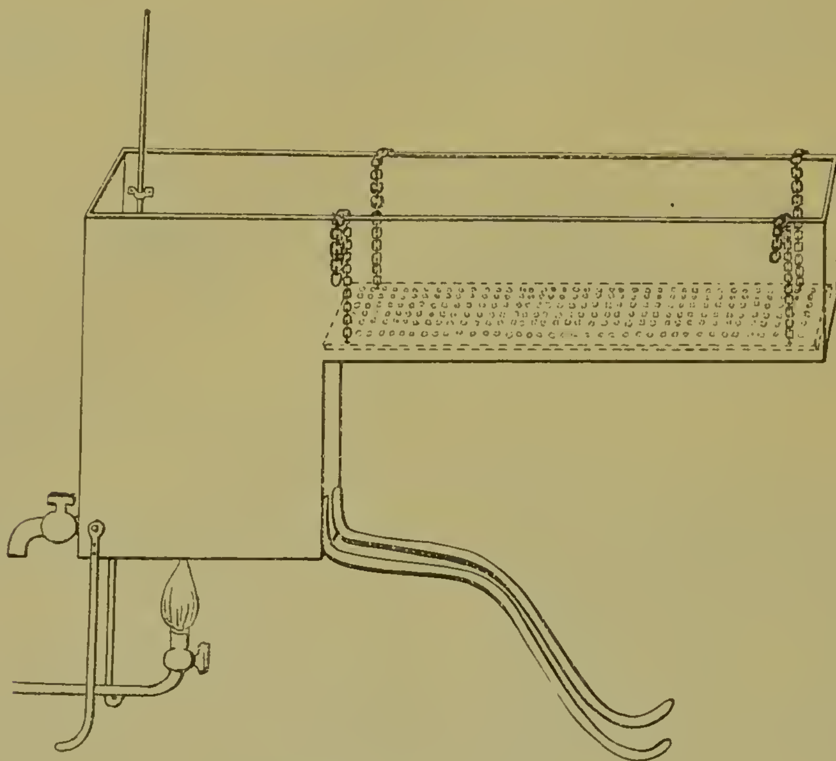
Die zum Warmhalten der Flaschen, welche die Injektionsmassen enthalten, erforderlichen Gefässe sind bereits früher bei der Besprechung der Apparate erwähnt worden, so bei den Apparaten von Lacaze-Duthiers (pag. 559), Stein (pag. 560), Ludwig-Tomsa (pag. 563), Hering-Toldt (pag. 563), Rutherford (pag. 563). Dieselben bestehen im wesentlichen aus einem Glas- oder Blechgefäss, welches mit warmem Wasser angefüllt und eventuell durch eine untergestellte Flamme auf der nöthigen Temperaturhöhe erhalten wird.

Der Apparat Rutherford's dient gleichzeitig zur Erwärmung der Injektionsmasse und des zu injicirenden Theiles. Wie aus Fig. 40 ersichtlich ist, besteht derselbe aus einem grösseren auf Füssen aufgestellten Troge, der zur Hälfte etwa mit Wasser gefüllt und durch einen untergestellten Bunsenbrenner zu der gewünschten Temperatur erwärmt wird. Den linken Theil des Troges nehmen zwei mit Injektionsmasse gefüllte Flaschen ein, während in dem grösseren rechten Theile eine durchlöcherte Platte befestigt und über dieselbe ein Glaskasten gestellt ist. In letzteren kommen die zu erwärmenden und zu injicirenden Präparate. Mittels eines seitlich angebrachten Thermometers wird die Temperatur des Wassers kontrollirt.

Eine ähnliche Konstruktion zeigt der Harting'sche Injektionstrog [63]) (Fig. 46). Der linke Abschnitt desselben ist tiefer und dient zur Aufnahme der die Injektionsmasse enthaltenden Flasche, auf dem rechten, flacheren wird das Präparat ausgebreitet, welches mittels der durchlöcherten Platte gehoben oder gesenkt werden kann. Der gleiche Apparat wird auch von Frey [50]) abgebildet und empfohlen.

Zu dem grossen, in verschiedenen Instituten aufgestellten Injektionsapparat von Ludwig gehört ein gesonderter Tisch mit einem Trog und Glaskasten, in welchem selbst sehr umfangreiche Körpertheile vorgewärmt werden können. Das unter der durchlöcherten Platte befindliche Wasser wird durch eine Reihe von Gasflammen erhitzt.

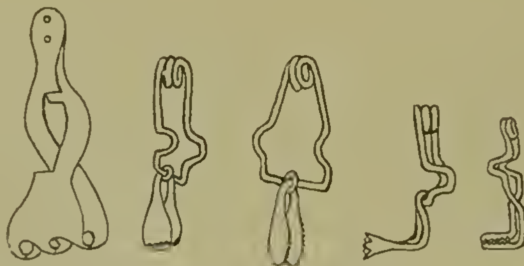
Fig. 46.



Injektionstrog von HARTING.

Um alle zu einer Injektion nothwendigen Apparate und Instrumente bequem bei der Hand zu haben, hat sich Fol [48]) einen eigenen Injektionstisch konstruiren lassen, dessen Abbildung er in seinem Lehrbuch wiedergiebt. Bei demselben ist der Glaskugel-Druckapparat (cf. pag. 564) unter dem Tische angebracht, und es werden die Glaskugeln mittels einer kleinen Kurbel und Holzrolle auf und ab bewegt. Das zu injicirende Objekt und die Flasche mit Injektionsmasse befinden sich beide in einer mit Wasser gefüllten, im Tische eingelassenen kupfernen Pfanne, die von unten her durch kleine Gasflammen warm gehalten wird. Der Tisch bleibt frei, und dennoch hat man alles unter der Hand, was zur Injektion nothwendig ist.

Fig. 47.



Klemmpincetten (Serre-fines).

Hilfsinstrumente. Viel wesentlicher als die eben angeführten Apparate sind die von verschiedenen Seiten empfohlenen Instrumente, welche zum Anlegen von Ligaturfäden, zur Stillung der Blutung und zum Zuklemmen von angeschnittenen Gefässen, aus denen die Masse bei der Injektion ausfliesst, dienen. Besonders die letzteren erweisen sich bei jeder Injektion als unentbehrlich und sollten daher in keinem Instrumentarium fehlen.

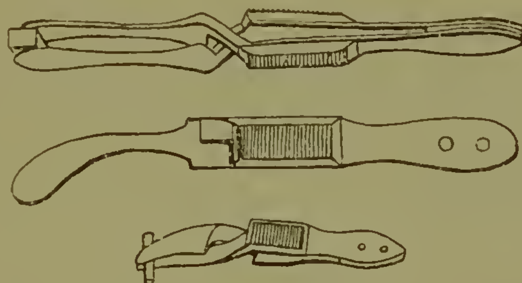
Zum Anlegen von Ligaturfäden empfiehlt Beale [8]) gerade und krumme Nadeln, sowie eine Aneurysmennadel. Von der Gewohnheit des Injektors wird es abhängen, ob er dies oder jenes Instrument benutzt. Zur Unterbindung von gröberen Gefässen eignet sich eine Aneurysmennadel ausgezeichnet, für feinere Gefässe zieht Referent eine gekrümmte feine Pincette vor, mittels deren der Faden unter dem Gefäss durchgeführt wird.

Zum Durchgängigmachen von Kanülen benutzt Robin [114]) feine Stahlnadeln. Da letztere jedoch meistens nicht die gehörige Länge besitzen, so dürften zu diesem Zwecke feine Drähte, die den Pravaz'schen Spritzen stets beigegeben werden, entsprechender sein.

Zur Stillung von kapillaren Blutungen empfiehlt Robin [114]) die Anwendung eines Thermokautors.

Zum Zuklemmen von angeschnittenen Gefässen dienen Klemmpincetten, welche von Robin [114]) und Beale [8]) am ausführlichsten beschrieben und abgebildet werden. Die kleineren aus Draht gefertigten werden als »Serre-fines« (Fig. 47) bezeichnet, die andern sind grösser und den Pincetten ähnlich (Fig. 48) und tragen den Namen »bull's-nose forceps« (Beale) oder

Fig. 48.



Klemmpincetten (Bull's-nose oder bulldog forceps).

»bulldog forceps« (Davies). Dieselben sind entweder gerade, gekrümmt oder unter einem rechten Winkel gebogen. Die Enden der Branchen sind entweder glatt, gerippt, zahn- oder klauenförmig in- oder aufeinandergreifend. Von Frey [50]) werden zum gleichen Zwecke Schieberpincetten empfohlen.

Injektionsmassen.

Wässerige kaltflüssige Massen.

Historisches. Die wässerigen Massen sind als die ältesten Injektionsflüssigkeiten zu bezeichnen, da dieselben neben dem Lufteinblasen in die Gefässe am frühesten zu Injektionen benutzt wurden. So soll etwa ums Jahr 1518 nach den Angaben von Portal, Haller und Hyrtl Berengarius Carpensis [10]) sich die Gefässe deutlicher sichtbar gemacht haben, indem er Wasser in dieselben einspritzte. Sylvius s. Dubois 1539 [143]) berichtet bereits von einigen mit gefärbten Flüssigkeiten ausgeführten Injektionen, zieht denselben jedoch das Einblasen von Luft vor.

Auch Eustachius 1563 [40]) bediente sich verschiedenartiger und gefärbter Flüssigkeiten zur Füllung der Gefässe. Glisson 1652 [57]) injicirte mit warmem Wasser, welches entweder mit Milch gemischt oder mit Safran gefärbt war, und bemerkt, dass man sich auch jeder anderen Flüssigkeit bedienen könne.

Von Willis 1659 [163]) wird ein »liquor tinctus« zur Injektion benutzt. Genauere Vorschriften über die Art und Bereitung von Injektionsflüssigkeiten finden sich bei Regnerus de Graaf 1664. [109]) Er giebt zunächst die Herstellung einer blauen Tinktur* an, falls dieselbe jedoch zu kostbar und

* Es handelt sich wahrscheinlich um eine Kupfer enthaltende Flüssigkeit. Die betreffende Stelle lautet: »Paratur egregia tinctura caerulea, si spiritum salis ammoniaci obulum vel limaturam aeris infuderis.«

ihre Bereitung zu schwierig sein sollte, so könne man »beneficio liquoris vulgaris« eine Tinktur aus Blumen, z. B. Veilchen, Rosen u. a. machen. Durch Zusatz von Kalkwasser, resp. Vitriolöl nehmen diese Flüssigkeiten verschiedene Nuancen an. Schliesslich könne man auch eine Auflösung von Gummigutta oder Indigo benutzen. Beides gemischt giebt eine grüne Farbe. Schliesslich könne man, wie dies REGNERUS DE GRAAF bei SWAMMERDAM gesehen hatte, das Blut in den Gefässen durch Einspritzung von »spiritus acidus« (Salzsäure nach HYRTL) wie Käse »instar casei« zum Gerinnen bringen.

Auch CASPAR BARTHOLIN 1675 [5]) und NUCK 1685 [101]) haben noch gefärbte wässerige Flüssigkeiten zur Injektion von Gefässen benutzt.

Schon aus dem Umstande, dass neben den Einspritzungen von wässerigen Flüssigkeiten auch das Einblasen von Luft zur Verfolgung der Gefässe in Anwendung kam, ja von einigen sogar bevorzugt wurde, geht hervor, dass sich die Injektionen von Flüssigkeiten für präparatorische Zwecke nur wenig eigneten. Diese Methode wurde auch in der Folgezeit fast gänzlich verlassen, nachdem man die Vorzüge der erstarrenden, Wachs-, Talg- und Leimmassen erkannt hatte.

Erst in neuerer Zeit sind die wässerigen Massen wieder zur Aufnahme gelangt.

Verwendung der Massen. Die wässerigen kaltflüssigen Massen haben vor allen übrigen Massen den Vorzug, dass sie sich in der weitgehendsten und vielseitigsten Weise anwenden lassen. Da dieselben leicht flüssig sind und kalt injicirt werden, so sind sie auch zu einer mehr makroskopischen Darstellung der Gefässe von Wirbellosen und niederen Wirbelthieren besonders gut geeignet. Ganz unentbehrlich erweisen sie sich bei mikroskopischen Untersuchungen von Gefässpräparaten, die in verschiedener Weise fixirt, in dünne Schnitte zerlegt und in mannigfacher Weise gefärbt werden sollen, und ferner bei Injektionen von Embryonen und Drüsengängen. Allerdings geben die wässerigen Massen im mikroskopischen Präparate keine so eleganten Bilder wie die transparenten Leimmassen, weil die Farbstoffe, falls dieselben nicht schon von vorneherein körnig sind, in grösseren oder kleineren Brocken durch die nachfolgende Fixirung der Präparate ausgefällt werden und die Masse die Lichtung der Gefässe nicht immer vollkommen ausfüllt. Aus diesem Grunde eignen sich diese Massen weniger zu Demonstrations- als zu Untersuchungspräparaten.

Vehikel. Von den Vehikeln kommt bei diesen Massen in erster Linie das Wasser in Betracht, alsdann Gemenge von Wasser und Glycerin und schliesslich verschiedene mit Wasser mischbare Substanzen, wie Gummi arabicum, Hühnereiweiss und kaltflüssige Gelatinelösungen.

Farbstoffe. Die Anzahl der zur Färbung der wässerigen Vehikel benutzten Farbstoffe ist sehr gross. Die einen, und zwar die Mehrzahl der Farbstoffe, sind in Wasser unlöslich und opak und werden daher in Form von Suspensionen injicirt, die anderen sind in Wasser löslich, transparent, und werden als Lösungen injicirt. Die opaken Farbstoffe eignen sich zu mikroskopischen Injektionen weniger gut als die transparenten; sie verdecken nämlich erstens infolge ihrer Undurchsichtigkeit im mikroskopischen Bilde zu viel, und zweitens füllen dieselben die Gefässe nur sehr ungleichmässig aus, indem sie infolge ihres meist ziemlich hohen Gewichtes sich schnell sedimentiren und dadurch in den feinen Gefässen leicht Verstopfungen, in den gröberen sehr verschiedenartige Farbentöne hervorrufen. Die gleichen Nachtheile besitzt auch die Methode von DOYÈRE, BOWMAN und BRÜCKE, bei welcher die Farbstoffe erst in den Gefässen durch konsekutives Injiciren von zwei einen Niederschlag bildenden Flüssigkeiten entstehen. Nicht alle empfohlenen Farbstoffe besitzen auch eine entsprechende Durchlässigkeit für Licht und schliesslich gestatten auch nicht alle Farb-

stoffe die Anwendung von vielen jetzt gebräuchlichen Fixirungsflüssigkeiten, weil sie von letzteren entweder gelöst oder wenigstens in ihrer Farbe verändert werden. Noch am günstigsten verhält sich in dieser Beziehung die chinesische Tusche, da sich dieselbe nicht leicht sedimentirt, eine genügende Intensität der Farbe besitzt und von keinen Reagentien angegriffen wird. Aus den angeführten Gründen wird man daher jetzt höchstens nur im Nothfall zu den opaken Farbstoffen bei wässerigen Injektionen seine Zuflucht nehmen, sich aber im übrigen eines der folgenden transparenten Farbstoffe bedienen.

Unter den transparenten, in Wasser löslichen Farbstoffen wären die Anilinfarbstoffe, das Karmin und die zur Gruppe des Berlinerblau gehörigen blauen Farbstoffe zu nennen.

Die Anilinfarbstoffe sind, wie sich bereits Robin und Legros [114]) überzeugt haben, zu Injektionen ganz untauglich, weil dieselben durch die Gefässwände diffundiren, in Alkohol meist löslich sind und sehr bald abblassen.

Das Karmin diffundirt in alkalischer Lösung durch die Gefässwände, in sauren fällt es dagegen aus der Lösung aus. Die genaue Neutralisation der Karminlösungen ist, wie wir es bei den Leimmassen sehen werden, sehr schwierig. Man wird daher am besten eine der schwach sauren glycerinösen Lösungen (von Beale oder Kollmann) zu Injektionen benutzen. In denselben ist das Karmin so feinkörnig ausgefällt, dass man sie als halbtransparent bezeichnen kann. Das Princip der Herstellung der Karminmasse ist fast durchgängig das gleiche. Das Karmin wird mit Wasser angefeuchtet, dann in etwas Ammoniak gelöst, das Glycerin zugegeben und hierauf mit angesäuertem Glycerin so lange tropfenweise versetzt, bis die Färbung der Lösung in eine hellrothe umschlägt.

Bei den Injektionen mit Karminmassen stellt sich wiederum die Schwierigkeit in der Auswahl einer geeigneten Fixirungsflüssigkeit für die Präparate ein, welche das Karmin nicht angreifen. Chromsäure und ihre Salze, Salpetersäure und Schwefelsäure sind zu vermeiden.

Die aus Eisensalzen bereiteten blauen Farbstoffe sind unter den Namen Berlinerblau (bleu de Prusse), Turnbull's Blau und neuerdings auch Pariserblau bekannt. Von den beiden ersteren existiren je zwei Modifikationen, von denen die eine in Wasser löslich, die andere unlöslich ist. Von diesen vier Modifikationen, die alle früher zu Injektionen benutzt wurden, kommt heutzutage nur noch das lösliche Berlinerblau in Anwendung. Die im Wasser unlöslichen Modifikationen sowohl des Berlinerblau wie auch von Turnbull's Blau wurden früher in der Form von Suspensionen injicirt, geben aber in mikroskopischen Präparaten ebenso wie die opaken Farbstoffe überhaupt sehr ungleichmässige Bilder und besitzen zum Theil die gleichen Nachtheile wie letztere. Man war daher schon früher darauf bedacht, diese Farbstoffe in der löslichen Form anzuwenden.

Nach der Angabe von Harting [63]) hat Schroeder van der Kolk als erster lösliches Berlinerblau bei Injektionen benutzt und nach ihm Harting.

Letzterer, Robin u. a. haben auch das unlösliche Produkt durch Zusatz von Oxalsäure löslich gemacht.

In Oxalsäure gelöstes Turnbull's Blau wurde von Thiersch und Fol zu Injektionen angewandt.

Von diesen Massen ist durchaus abzurathen, da die Oxalsäure die Gewebe stark angreift.

Sobald die lösliche Modifikation des Berlinerblau mehr bekannt wurde, fand dieselbe in der Technik eine ausgiebige Verwendung. Da das lösliche Produkt früher im Handel nicht vorhanden war, finden sich in zahlreichen älteren Lehrbüchern und Specialarbeiten Vorschriften zur Herstel-

lung desselben (cf. die Arbeiten von BRÜCKE, MAYER, CHABRY, HOYER). Heutzutage wird sich wohl niemand mehr dieser Mühe unterziehen, weil das Präparat vielfach im grossen dargestellt wird und von GRÜBLER in Leipzig leicht bezogen werden kann. Obwohl auch von TURNBULL's Blau ein lösliches Präparat hergestellt werden kann, so wird dasselbe dennoch nicht benutzt, weil das Berlinerblau schönere und tiefere Töne besitzt.

Zur Injektion wird das käufliche trockene lösliche Berlinerblau in Wasser gelöst und entweder in dieser Lösung oder besser mit einem Zusatz von Glycerin injicirt. Da das trockene Präparat bei langem Stehen allmählich in die unlösliche Verbindung übergeht, so empfiehlt es sich, dasselbe von vorneherein mit Glycerin zu einem dicken Brei zu verreiben, der sich dann unbegrenzt lange unverändert hält. Zum Gebrauche wird eine koncentrirte Lösung mit Wasser bereitet und derselben noch etwa $^1/_3$ Volumen Glycerin hinzugefügt. Diese Lösung kann dann noch, wenn nöthig, weiter mit Wasser verdünnt werden.

Das lösliche Berlinerblau durch eine Kochsalzlösung (PRUSSAK, MAYER) oder Alkohol (W. MÜLLER) auszufällen und dann erst zu injiciren, erscheint als eine überflüssige Manipulation, die keinerlei Vortheile mit sich bringt.

Ausser dem löslichen Berlinerblau wird in neuerer Zeit unter dem Namen Pariserblau ein Präparat fabriksmässig dargestellt, welches ebenfalls leicht löslich ist und sich sonst ebenso verhält wie das Berlinerblau, aber weit billiger ist als letzteres. Die Herstellung des Präparates ist Fabriksgeheimniss.

Das injicirte Berlinerblau wird in den Gefässen theils durch die Berührung mit der Blutflüssigkeit, theils durch die Einwirkung der Fixirungsreagentien ausgefällt und stellt sich im mikroskopischen Bilde in Form von Körnern dar, die jedoch mit einander so fest zusammenhängen, dass sie beim Schneiden des Präparates weder herausfallen noch über dasselbe verstreut werden.

Kommt das Berlinerblau mit stark alkalischen Geweben, z. B. der Leber in Berührung, so entfärbt es sich leicht und blasst ab. Daher fügen verschiedene Autoren zu der Injektionsmasse schwache Säuren hinzu (HARTING Weinsäure, BEALE und ROBIN Salzsäure und MAYER Essigsäure). Empfehlenswerther ist es, die Injektionspräparate in sauren Fixirungsflüssigkeiten oder wenigstens in angesäuerten (ROBIN) zu erhärten. Auch kann man in der Weise verfahren, dass man die lösliche sich entfärbende Verbindung von Berlinerblau nachträglich in die unlösliche farbenfeste überführt. Es geschieht dies am besten dann, wenn man die Präparate aus der Fixirungsflüssigkeit durch die Alkohole hindurchführt, oder wenn man das Präparat von vorneherein in Alkohol fixirt, dem man etwas Eisenchlorid zusetzt.

Das Berlinerblau ist gegen sämmtliche Fixirungsreagentien vollkommen widerstandsfähig. Sowohl aus diesem Grunde als auch wegen seiner sonstigen Vorzüge hat das Berlinerblau in der Injektionstechnik die häufigste und vielseitigste Anwendung gefunden.

Rein wässerige opake Injektionsmassen.

DOYÈRE[35]) injicirt zuerst eine filtrirte Lösung von chromsaurem Kalium und hierauf eine solche von essigsaurem Blei. In den Gefässen bildet sich hieraus Bleichromat. Diese Substanz erwies sich bei Injektionen am geeignetsten, doch könne man in den Gefässen ebensogut Berlinerblau, Jodquecksilber, Bleikarbonat oder Baryumsulfat ausfällen.

BOWMAN[19]) verfährt in ähnlicher Weise, indem er essigsaures Blei und chromsaures Kalium nacheinander einspritzt.

FREY[50]) hat diese Methode geprüft und gefunden, dass der Gefässverlauf zwar ganz gut sichtbar ist, dass aber die Präparate keineswegs schön ausfallen.

BRÜCKE[22]) hat zuerst eine koncentrirte Lösung von Blutlaugensalz so lange in die Arterien injicirt, bis dieselbe aus den Venen nur noch mit wenig Blut gemischt ausströmte.

Alsdann liess er aus den Venen und der offenen Kanüle so viel ausfliessen, als freiwillig abfloss, und injieirte hierauf eine koncentrirte Lösung von eisenfreiem Kupfervitriol, bis dieselbe ihrerseits aus den Venen abfloss. Nach 24stündigem Liegen konnten die Objekte behufs weiterer Untersuchung zerschnitten werden.

W. Müller[99]) lässt das Ferrocyankupfer nicht in den Gefässen entstehen, sondern bereitet sich dasselbe zuvor und injieirt es in einer Lösung von Kalium bichromicum. Das genauere Verfahren ist folgendes: Der aus äquivalenten Mengen von Kalium chromicum und Cuprum sulfuricum gewonnene Niederschlag wird ausgewaschen und in überschüssiger Chromsäure aufgelöst. Aus dieser Lösung wird dann mittels Kalium ferrocyanatum das Ferrocyankupfer ausgefällt. Dieses wird sammt der entstandenen Lösung von doppelt chromsaurem Kalium zur Injektion benutzt.

Strauss-Durckheim[138]) empfiehlt zur Injektion Suspensionen von Gummigutta, Grünspan und Indigo in Wasser.

Taguchi[141]) empfiehlt chinesische oder noch besser japanische Tusche. Die letztere ist vorzuziehen, weil sie härter ist und daher beim Verreiben ein feineres Korn giebt. Man wählt eine mittelgute Sorte, reibt dieselbe auf einem feinen Reibestein an, bis man eine schwarze Flüssigkeit bekommt, die auf gutes und dünnes Löschpapier getropft keinen grauen Ring um den Tropfen entstehen lässt. Man injicirt mit der Tusche so lange, bis das Präparat ganz schwarz erscheint. Nach der Injektion darf das Präparat wenigstens in zerschnittenem Zustande nicht mit Wasser in Berührung kommen, sondern wird sogleich in die Fixirungsflüssigkeit gelegt. Mit der Masse lassen sich Blut- und Lymphgefässe, Kapillaren, Saftlücken, Saftkanälchen injieiren. Diese Injektionsmasse hat folgende Vortheile: 1. Der Farbstoff wird weder durch Licht noch durch chemische Einwirkungen verändert. 2. Die Kohletheilchen verändern die Gewebe ausserhalb der Gefässe nicht. 3. Der Farbstoff haftet der Gefässwand so fest an, dass die Masse auf den Schnittflächen nicht wieder ausfliesst. 4. Die Präparate können in Alkohol, doppeltchromsaurer Kalilösung, Chromsäurelösung, Pikrinsäurelösung erhärtet werden, ohne ihre Farbe zu verändern. 5. Die Präparate können in Glycerin frisch untersucht werden. 6. Die von dem injieirten Präparate hergestellten Schnitte können mit einem beliebigen Farbstoff nachgefärbt werden.

Dalla Rosa[39]) benutzt die käufliche flüssige chinesische Tusche zur Injektion von Lymphgefässen (siehe diese).

Emery verwendet nach der Angabe von Mayer[94]) als kaltflüssige Masse eine 10%ige mit Ammoniak bereitete Karminlösung, welcher unter beständigem Rühren so lange Essigsäure zugesetzt wird, bis durch beginnende Fällung des Karmins die Farbe der Flüssigkeit in blutroth umschlägt. Zur Verwendung gelangt nur die über dem geringen Niederschlage stehende klare Lösung. Nach der Injektion werden die Objekte sofort in starken Alkohol gebracht, damit das Karmin rasch gefällt werde. Handelt es sich nicht um eine Injektion der Kapillaren, so erlangt man oft gute Resultate, wenn man die 10%ige Karminlösung allmählich so stark mit Essigsäure mischt, dass das Karmin zum Theil ausgefällt wird. Man muss die Masse vor dem Gebrauche umschütteln und eine kurze Zeit stehen lassen.

Harting[63]) benutzt das in Oxalsäure gelöste Berlinerblau oder auch das wasserlösliche nach entsprechender Verdünnung zu kalten Injektionen (das Genauere siehe unter den Leimmassen).

Nach Friedländer[52]) löst sich das vom Drogisten bezogene lösliche Berlinerblau erst nach Zusatz von Oxalsäure. Erst in einer solchen Lösung kann es zu Injektionen benutzt werden.

Mayer[95]) giebt zunächst einige bei der Injektion von Fischen zu beobachtende Kunstgriffe an und beschreibt dann die von ihm geübte Methode zur Herstellung des löslichen Berlinerblau. Dasselbe wird erst nach Durchspülung der Gefässe mit destillirtem Wasser oder Alkohol von 10% injieirt. Werden die Gefässe nicht ausgewaschen, so injieire man besser das feinkörnige Präcipitat, welches man durch Mischen gleicher Volumtheile von Berlinerblau und 10%iger Kochsalzlösung erhält. Ein Zusatz von Essigsäure zum Injektionswasser oder Berlinerblau ist praktisch, da letzteres in Gegenwart von Alkalien leicht verblasst.

Wertheim[161]) empfiehlt eine Lösung von Berlinerblau ohne Glycerin zum Studium der Gefässentwicklung von Hühnern und Forellen.

Siebenmann[130]) injieirt eine 2%ige wässerige Berlinerblaulösung zur Untersuchung der Blutgefässe des Labyrinthes.

Wässerige Massen mit einem Zusatz von Glycerin oder Alkohol. Wie oben bereits erwähnt wurde, erweist sich ein Zusatz von Glycerin zu den wässerigen Injektionsmassen sehr vortheilhaft. Durch dasselbe wird das specifische Gewicht des Vehikels wesentlich erhöht, so dass bei opaken Massen die in der Flüssigkeit suspendirten Farbstoffe sich weniger schnell sedimentiren. Infolge der stärkeren Konsistenz des Vehikels wird auch bei transparenten Massen eine bessere und gleichmässigere Füllung der Gefässe bewirkt. Da das Glycerin überdies keinen nachtheiligen Einfluss

auf die Gewebe ausübt, so haben auch die meisten Autoren, welche Injektionen ausgeführt haben, stets die wässerigen glycerinhaltigen Massen benutzt. Die Menge des der Masse zugesetzten Glycerins beträgt im Durchschnitt ein Drittel des Gesammtvolumens.

Von verschiedenen Seiten wird auch Alkohol allein (Strauss-Durckheim, Hoyer) oder Alkohol und Glycerin als Zusatz zur Injektionsflüssigkeit empfohlen. Die rein alkoholischen Lösungen diffundiren durch die Gefässwände und lassen sich gleichzeitig zur Färbung derselben benutzen (Hoyer). Welchen Zweck die Mischung von Alkohol und Glycerin haben soll, lässt sich aus den Arbeiten der Autoren nicht entnehmen. Nach der Ansicht des Referenten ist der Alkohol überflüssig.

Von Farbstoffen kommen sowohl die opaken als auch die transparenten, letztere vorzugsweise zur Anwendung.

Opake Massen.

Weisse Massen. Frey[50]) bereitet sich eine weisse Masse aus schwefelsaurem Baryt durch Ausfällung von Chlorbaryum mit Schwefelsäure. Nach 12—14stündigem Stehen in einem hohen Glascylinder hat sich dasselbe vollkommen abgesetzt. Man giesst ungefähr die Hälfte der wieder klar gewordenen Flüssigkeit ab und versetzt den Rest mit einem Gemisch von je 30 Grm. Alkohol und Glycerin.

Leber[86]) benutzt zur Injektion von Augengefässen als weisse Masse auch schwefelsauren Baryt in Glycerin.

Gelbe Massen. Harting[63]) giebt für gelbe Massen 2 Vorschriften an: nach der ersten wird ein Stück Gummigutta auf einem Teller wie eine Wasserfarbe abgerieben und dann mit Glycerin vermischt; nach der zweiten wird zu einer Mischung von gleichen Theilen Glycerin und Wasser eine ganz gesättigte alkoholische Lösung von Gummigutta zugesetzt. Beim Schütteln dieses Gemenges präcipitirt sich der Farbstoff in sehr feinen Körnchen, die aber ziemlich das gleiche specifische Gewicht haben wie die Flüssigkeit und sich daher in derselben suspendirt erhalten.

Robin[114]) bereitet eine gelbe Masse, indem er 40 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kadmiumsulfat und 50 Ccm. Glycerin und 30 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Schwefelnatrium und 50 Ccm. Glycerin mit einander vermischt. Das ausgefällte Kadmiumsulfür senkt sich ziemlich schnell. Man muss daher die Flüssigkeit vor dem Gebrauch jedesmal schütteln. Von dem Farbstoff fügt man 1 Theil zu einer Mischung von 2 Theilen Glycerin, 1 Theil Wasser und 1 Theil Alkohol. Die Kadmiummasse ist sehr feinkörnig, daher dem Chromgelb überlegen.

Grüne Massen. Robin[114]) zieht der Mischung von Gelb und Blau zu einer grünen Masse das Scheele'sche Grün vor. Er mischt 80 Ccm. einer koncentrirten Lösung von arseniksaurem Kalium und 50 Ccm. Glycerin mit 40 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kupfersulfat und 50 Ccm. Glycerin. Die mit dieser Masse ausgeführten Injektionen sind nicht so elegant wie die rothen, blauen und gelben, weil die Farbe weniger intensiv ist. Man muss daher mehr Farbe zu dem Vehikel (Glycerin 2, Wasser 1, Alkohol 1) hinzufügen.

Braune Massen. Leber[86]) benutzte zur Injektion der Augengefässe ausser Berlinerblau als rothbraune Masse eine Verbindung von Ferrocyankupfer mit oxalsaurem Ammoniak.

Robin[114]) findet die Masse von Leber weniger schön und transparent als die Karminmasse. Er bereitet dieselbe in folgender Weise: 20 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kaliumeisencyanür und 50 Ccm. Glycerin werden mit 35 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kupfersulfat und 50 Ccm. Glycerin gemischt. Von der Mischung gibt man 1 Theil auf 3 Theile des Vehikels (Glycerin 2, Wasser 1, Alkohol 1).

Transparente Massen.

Rothe Massen. Nach Strauss-Durckheim[138]) geben Wasser oder Alkohol mit einem in denselben gelösten Farbstoffe tingirt eine gut eindringende Injektionsflüssigkeit ab. Als Farbstoff dient »Orseille«, ein aus der Pflanze Lecanora tinctoria bereitetes Produkt, welches sich in destillirtem Wasser purpurn, in Brunnenwasser violettrosa löst, ferner Krapp (laque de garance) und »Orcanète«, ein in verschiedenen zu der Familie der Boraginaceae gehörigen Pflanzen vorkommender Farbstoff, welcher mit Alkohol eine schöne kirschrothe Farbe giebt, der aber in die Gewebe diffundirt.

Beale.[8]) Da ammoniakalische Karminlösung selbst nach Zusatz von etwas Alkohol und Glycerin aus den injicirten Gefässen in die Gewebe diffundirt, giebt Beale folgende saure Karminlösung an: Karmin 5 Gran = 0,12 Grm., mit 8—10 Tropfen Salz- oder Essigsäure angesäuertes Glycerin $^1/_2$ Unze = 14,62 Grm., Glycerin 1 Unze = 29,23 Grm., Alkohol 2 Drachmen = 7,31 Grm., Wasser 6 Drachmen = 21,92 Grm., Ammoniak 5 Tropfen. Man befeuchtet

das Karmin mit etwa 5 Tropfen Wasser und löst dasselbe dann in 5 Tropfen Ammoniak. Hierauf fügt man etwa $^1/_2$ Unze Glycerin hinzu und schüttelt. Alsdann wird das angesäuerte Glycerin tropfenweise und unter Umschütteln zugesetzt und die Mischung von Zeit zu Zeit mit Lakmuspapier auf ihre Reaktion geprüft. Zeigt sich keine deutliche saure Reaktion, so fügt man zu dem Rest von Glycerin noch einige Tropfen Säure und mischt dieses mit der Karminlösung. Schliesslich werden Alkohol und Wasser vorsichtig zugesetzt.

Harting[63]) macht keine nähere Angaben über die zur Herstellung der Karminmasse nöthigen Quantitäten, bemerkt nur, dass das Glycerin des Handels meist sauer reagirt. Man mische daher zunächst die ammoniakalische Karminlösung mit Glycerin und füge dann eventuell noch Säure hinzu.

Die rothe Masse mit der blauen gemischt giebt eine violette.

Robin[114]) 3 Grm. Karmin werden mit Wasser befeuchtet und dann in einigen Tropfen Ammoniak gelöst. Die Menge des letzteren hängt von seiner Koncentration und der Qualität des Karmins ab. Hierzu mischt man 50 Grm. Glycerin. Weitere 50 Grm. Glycerin werden mit 5 Grm. Essigsäure angesäuert und dann vorsichtig zur ersten Lösung zugefügt, bis dieselbe mit Lakmuspapier eine saure Reaktion zeigt. Von dieser Lösung mischt man 1 Theil mit 3—4 Theilen des Gemenges von 2 Theilen Glycerin, 1 Theil Wasser und 1 Theil Alkohol.

Kollmann[80]) mischt 1 Grm. Karmin mit etwas Wasser, löst dasselbe dann durch 15—20 Tropfen koncentrirten Ammoniaks und verdünnt es mit 20 Ccm. Glycerin. Weitere 20 Ccm. Glycerin werden mit 15—20 Tropfen koncentrirter Salzsäure versetzt und der Karminlösung unter Umrühren beigefügt. Die Masse nimmt eine hellrothe Farbe an und enthält den Farbstoff in höchst feinen Körnchen suspendirt.

Prussak[106]) hat statt eines feinen Niederschlages von Berlinerblau auch einen solchen von Karmin mit wässerigem Glycerin versetzt, brauchbar gefunden.

Hoyer[71]) verwendet zur Injektion der Gefässe und gleichzeitiger Färbung der Gefässwände eine Lösung von Karmin, welche nur einen geringen Ueberschuss von Ammoniak enthält, und setzt derselben etwa 20—25$^0/_0$ Alkohol hinzu (1 Theil Karmin auf 80 Theile Lösung und 20 Theile Alkohol).

Blaue Massen. Beale[8]) bereitet sich das Berlinerblau selbst und giebt 2 Vorschriften dafür an; 2 weitere für die Beale'sche Masse finden sich bei Frey[50]), der dieselben ausserordentlich lobt. Die vierte ist eine Modifikation von Frey:

	Beale I.		Beale II.	
Kalium ferrocyanatum .	12 Gran	= 0,73 Grm.	3 Gran	= 0,18 Grm.
Glycerin	1 Unze	= 29,23 „	2 Unzen	= 58,46 „
Wasser	4 Unzen	= 116,93 „	1 Unze	= 29,23 „
Liquor ferri sesquichlor.	1 Drachme	= 3,65 „	10 Tropfen	
Alkohol	1 Unze	= 29,23 „	Konc. HCl. = 3 Tropfen	

	Beale III.	Beale-Frey
Kalium ferrocyanatum .	0,95 Grm.	0,18 Grm.
Glycerin	30,0 „	30,0 „
Wasser	120,0 Ccm.	15 Ccm.
Liquor ferri sesquichlor.	2—2,5 Grm.	10 Tropfen
Alkohol	30,0 Grm. Methylalkohol 5,5	Konc. HCl = 3 Tropfen

ad I. Man löst das Kalium ferrocyanatum in 1 Unze Wasser und $^1/_2$ Glycerin und verdünnt die Lösung von Eisenchlorid in gleicher Weise mit 1 Unze Wasser und $^1/_2$ Glycerin, alsdann fügt man tropfenweise die zweite zur ersteren. Schliesslich setzt man den Rest des Wassers und den Alkohol hinzu. Für sehr feine Injektionen nimmt man nur die Hälfte des Eisenchlorids und des Kaliumeisencyanürs.

ad II. Die Masse wird in der gleichen Weise wie die erste bereitet.

ad III. Das Kaliumeisencyanür wird in 30 Ccm. Wasser gelöst und die Eisenchloridlösung mit 30 Ccm. Wasser verdünnt. Letztere wird vorsichtig in die erstere eingetragen. Ferner mischt man 60 Ccm. Wasser, 30 Grm. Glycerin, 30 Grm. Aethyl- und 5,5 Grm. Methylalkohol und fügt dieses Gemisch unter Schütteln vorsichtig zu dem ersteren hinzu. Der Methylalkohol erscheint Frey überflüssig.

ad IV. Die nach dieser Vorschrift zubereitete Masse übertrifft nach Frey alle übrigen an Feinheit. Die 10 Tropfen Eisenchlorid werden mit 15 Grm. Glycerin verdünnt. Gesondert werden die 0,18 Grm. Kaliumeisencyanür in ein wenig Wasser gelöst und mit 15 Grm. Glycerin verdünnt. Alsdann werden die beiden Lösungen mit einander unter starkem Schütteln vermischt und 15 Ccm. Wasser und 3 Tropfen starke Salzsäure zugesetzt.

Robin[114]) hat die Beale'sche Vorschrift in folgender Weise modificirt: 90 Ccm. einer Lösung von Kaliumeisencyanür (im Original steht »sulfocyanure de potassium« = Rhodankalium) und 50 Ccm. Glycerin werden vorsichtig mit einer Lösung von 3 Ccm. Eisenperchlorid von 30° und 50 Ccm. Glycerin gemischt und in einem Verhältniss von 1:3 einer Mischung von Glycerin 2, Wasser 1 und Alkohol 1 Theil zugesetzt. Die Masse ist nach Robin sehr transparent. Da dieselbe bei Berührung mit Alkalien abblasst, so fügt man derselben sowie auch dem Alkohol, in welchem das Präparat fixirt werden soll, einige Tropfen Salzsäure zu.

Doherty[84]) bereitet die blaue Masse nach folgender Vorschrift: Glycerin 28,4 Ccm., Methylalkohol 28,4, Wasser 113,6. In der einen Hälfte dieses Gemisches werden 0,77 Grm. Kaliumferrocyanür (im Referat der Arbeit, deren Original nicht zugänglich war, steht »Kaliumferrocyanid« = rothes Blutlaugensalz), in der anderen 3,5 Ccm. englische Eisenchloridtinktur gelöst. Die letztere Mischung wird zur ersteren allmählich und unter Schütteln zugesetzt.

Harting.[63]) Man erhält eine recht dunkle Halbsolution von in Wasser unlöslichem Berlinerblau, wenn man dasselbe mit etwa dem dritten Theil Oxalsäure im Mörser zu einem feinen Pulver verreibt und unter fortgesetztem Reiben 8—10 Gewichtstheile destillirten Wassers zufügt. Das überschüssige Berlinerblau lässt man sich absetzen und giesst die klare Flüssigkeit ab, die entweder nur mit Wasser verdünnt oder etwa mit $^1/_3$ Glycerin versetzt zur kalten Injektion benutzt werden kann.

Robin[114]) empfiehlt nur in dringenden Fällen Berlinerblau in Oxalsäure zu lösen und Glycerin hinzuzufügen.

Friedländer.[52]) Das vom Drogisten bezogene lösliche Berlinerblau löst sich zuweilen erst nach Zusatz von Oxalsäure. Die Lösung kann direkt zur Injektion benutzt werden oder mit einem Zusatz von 5 Theilen Alkohol und ebensoviel Glycerin.

W. Müller[99]) räth, das lösliche Berlinerblau durch Zusatz von 90% Alkohol zu der concentrirten Lösung auszufällen. Der Niederschlag ist äusserst fein und setzt sich erst nach längerer Zeit ab.

Prussak[106]) findet von den verschiedenen Massen zur Injektion der Gefässe der Trommelhöhle am brauchbarsten eine concentrirte Lösung von Berlinerblau, welches nachträglich durch Zusatz von Kochsalz ausgefällt wird. Die Kochsalzmenge muss sehr allmählich der blauen Lösung zugefügt werden, und zwar nur in dem Masse, dass nicht weniger als ein halbes und nicht mehr als ein ganzes Procent von NaCl in der Flüssigkeit gelöst ist. Die Absicht, welche mit diesem vorsichtigen Zusatz von NaCl erreicht werden soll, besteht darin, dass der Niederschlag möglichst feinkörnig wird. Zu der gefällten blauen Farbe mischt man ein gleiches Volumen Glycerin.

Richardson[112]) zieht das Turnbull's Blau dem Berlinerblau vor. Im folgenden ist seine Vorschrift unter I, die von Beale und Frey vorgenommenen Modifikationen unter II und III angegeben.

	I Richardson	II Beale	III Frey
Eisensulfat . . .	10 Gran = 0,61 Grm.	5 Gran = 0,12 Grm.	0.62 Grm.
Kaliumferrocyanid	32 „ = 1,95 „	10 „ = 0,61 „	2,0 „
Wasser	als zur Lösung nothwendig	1 Unze = 29,23 „	60 Ccm.
Glycerin	1 Unze = 29,23 „	2 Unzen = 58,46 „	Menge nicht angegeben
Alkohol	0	1 Drachme = 3,65 „	

Das Eisensulfat wird in ein wenig destillirten Wassers aufgelöst und demselben Glycerin zugefügt. Alsdann wird das Kaliumferrocyanid in Wasser gesondert gelöst, Glycerin hinzugefügt und dann Lösung 1 vorsichtig und unter Schütteln mit Lösung 2 gemischt. Harting findet in dieser Masse keine Vorzüge vor der mit Berlinerblau bereiteten Masse.

Mit Wasser mischbare, kalt zu injicirende und in Fixirungsreagentien erstarrende Vehikel. Als bereits die Injektionstechnik sich zu entwickeln begann, waren die Anatomen darauf bedacht, eine Masse ausfindig zu machen, welche kalt zu injiciren wäre und in den Gefässen erstarrte. Swammerdam und Regnerus de Graaf spritzten Salzsäure in die Gefässe ein und brachten dadurch das Blut zur Koagulation. Die von Regnerus de Graaf und verschiedenen anderen Forschern geübte Methode, durch Injektion von frischer Milch sich den Gefässverlauf sichtbar zu machen, ist dann später insofern verbessert worden, als die Milch in den Gefässen durch Benetzung der Präparate »mit starkem Essig oder mit einer verdünnten mineralischen Säure« zur Koagulation gebracht wurde (Lauth[84]). Strauss-Durckheim[138]) empfiehlt hierzu wegen des hohen Gehaltes an Kaseïn Schaf- oder Ziegenmilch ohne oder mit Zusatz eines Farbstoffes. Nach der Injektion sollten die Präparate in eine schwache Essig-, Schwefel- oder Salzsäure enthaltende Flüssigkeit gebracht werden. Auch Robin[114]) führt die Milch noch an und ausser den Säuren noch Alkohol als Koagulationsmittel: doch sei die Milch als Injektionsmasse wenig zu empfehlen, weil sie stets hässliche Bilder liefere, und man werde daher nur im Nothfalle zu derselben greifen.

Ebenso wenig günstige Resultate liefern Injektionen mit der von mehreren Seiten angegebenen Masse aus Gummi arabicum. In entsprechender Weise gefärbt (Zinnober) wurde dasselbe schon von Berres[11]) zu Injektionen

von Kapillaren angewandt und demselben dann eine Harzmasse zur Füllung der gröberen Gefässe nachgeschickt. Vogt und Yung[156]) verwandten eine koncentrirte, filtrirte und mit Chromgelb, Zinnober oder Berlinerblau gefärbte Lösung von arabischem Gummi und fixirten dieselbe durch Einlegen der Präparate in Alkohol.

Für makroskopische Zwecke ist diese Masse allenfalls noch brauchbar, nicht aber für mikroskopische Präparate, da das Gummi durch den Alkohol weiss wird und so hart, dass es unter dem Messer des Mikrotoms knirscht. Ueberdies erstarrt die Masse in den Gefässen bei der Härtung sehr ungleichmässig, und es finden, wie die Autoren selbst angeben, Kontinuitätsunterbrechungen statt.

Die gleichen Nachtheile treten auch bei der von Bjeloussow[12]) so sehr gerühmten aus Gummi arabicum und Borax hergestellten Masse auf, deren genaue Bereitung unten angeführt ist.

Von den kaltflüssigen erstarrenden Massen sind zum Gebrauche die Eiweissmassen (natürlich mit Ausnahme der Milch) und die neuerdings von Tandler[145]) angegebene kaltflüssige Gelatinemasse noch am meisten zu empfehlen. Lauth[84]), Strauss-Durckheim[138]), Joseph[78]) und Grosser[59]) rühmen die Eiweissmassen ausserordentlich, weniger günstige Urtheile über dieselben fällen Robin[114]) und Vogt und Yung[156]), weil, wie sie behaupten, die Masse die Gefässe nach der Fixirung nicht kontinuirlich ausfülle und daher den Präparaten ein hässliches Aussehen verleihe. Diese ungünstigen Urtheile sind wohl hauptsächlich den Bildern zuzuschreiben, welche bei der Fixirung mit Alkohol entstehen. Mit Hilfe unseren moderner Fixirungsreagentien dürfte die Koagulation des Eiweisses wohl gleichmässiger ausfallen.

Allgemein wird mit Wasser verdünntes Hühnereiweiss zur Bereitung der Masse benutzt. welche mit einem in Wasser löslichen oder unlöslichen, feinkörnigen Farbstoffe versetzt wird. Zur Fixirung der Injektionspräparate sind sämmtliche Reagentien ausser Formol brauchbar, doch kann auch letzteres jedoch in Verbindung mit Müller'scher Flüssigkeit oder Pikrinsäure in Anwendung kommen (Grosser).

Bjeloussow[12]) zählt neben der Billigkeit und leichten Handhabung seiner Masse eine Reihe von Vorzügen derselben auf, wonach die Masse eine geradezu universelle Anwendung finden könnte. Nach Bjeloussow eignet sie sich zum Injiciren von verschiedenen gefässartigen Räumen, wie Drüsengängen, von lymphatischen Räumen, für Einstichinjektionen, vor allem aber für Blutgefässe bei niederen und höheren Thieren. Die Masse besteht aus Borax und Gummi arabicum. Von jedem wird gesondert eine koncentrirte Lösung hergestellt und beide in dem Verhältniss von einem halben Gewichtstheil Borax auf ein Gewichtstheil Gummi mit einander vermischt. Es entsteht eine gelatinöse zähe Masse, die in Wasser fast unlöslich ist. Um die Masse zur Injektion brauchbar zu machen, wird dieselbe unter allmählichem Zusatz von gewöhnlichem (nicht destillirtem) Wasser geknetet und ein- oder mehrmals durch eine feine Leinwand gepresst. Die auf diese Weise erhaltene Masse lässt sich in diesem Zustand nach Belieben mit Wasser verdünnen und auf den gewünschten Grad der Konsistenz bringen. Die fertige Injektionsmasse kann dann mit trockenen Mineralfarben verrieben oder mit gelösten Pflanzenfarben je nach dem Ziele und den Erfordernissen der Injektion versetzt werden. Die injicirten Präparate werden alsdann in Spiritus aufbewahrt. Spiritus macht die Masse aufquellen (!), aber unlöslich. Nur in schwacher Essigsäure ist dieselbe löslich und kann auch mittels dieser aus den Gefässen wieder entfernt werden. Die Masse fliesst beim Anschneiden aus den Gefässen nicht aus, wird aber auch nicht hart und brüchig (!).

Eiweissmassen. Lauth[84]) schreibt: »Eine sehr weit vordringende Masse besteht aus Eiweiss, welches man durch Zusatz von etwas Wasser flüssiger macht und mit einer recht fein gepulverten Farbe färbt. Die Masse wird sogleich fest, wenn man das Präparat in Weingeist bringt.«

Nach Strauss-Durckheim[138]) mischt man 1 Theil Eiweiss mit 2 Theilen Wasser, schüttelt tüchtig und lässt die Lösung 24 Stunden ruhig stehen. Alsdann seiht man sie durch Leinwand durch, färbt sie und injicirt. Die Präparate werden nach der Injektion in eine das Eiweiss ausfällende Flüssigkeit gethan. Zur Färbung dienen Indigo, Berlinerblau, Karmin, Krapplack, Indischgelb. Die Masse lässt sich in gelöstem oder getrocknetem Zustande lange Zeit aufbewahren.

Nach ROBIN [114]) dringt Eiweiss, welches ungefärbt oder gefärbt gebraucht werden kann, sehr gut ein. Man bringt dasselbe zur Koagulation, indem man die injicirten Objekte entweder in heisses Wasser oder in eine verdünnte Säure oder Alkohol einlegt. Im allgemeinen ist diese Injektionsmasse wenig zu empfehlen, weil sie stets hässliche Bilder liefert. Die gleiche Ansicht äussern VOGT und YUNG.

JOSEPH [78]) empfiehlt zur Injektion von Blutgefässen von wirbellosen Thieren filtrirtes Hühnereiweiss, mit oder ohne Zusatz der gewöhnlichen 1—5%igen Karminlösung. Zu den Vorzügen der Masse gehört, dass sich die injicirten Präparate in verdünnter Salpeter-, Chrom- oder Osmiumsäure fixiren lassen.

GROSSER. [59]) Da die meisten kaltflüssigen Massen, die den warmflüssigen in vieler Beziehung vorzuziehen sind, nur eine sehr beschränkte Auswahl in den Fixirungsmitteln zulassen, so empfiehlt GROSSER Tusche, welche in Hühnereiweiss suspendirt wird, damit ein Verstreuen der Körnchen auf der Schnittfläche vermieden wird. Das Verfahren ist folgendes: »Das Eiweiss wird vom Dotter getrennt, wie zur Darstellung von Aufklebe-Eiweiss mit einem Stabe kurze Zeit geschlagen und dann 12—24 Stunden durch trockenes Filtrirpapier filtrirt. Zusatz von Kampherstückchen ist vortheilhaft, weil sich dann das Filtrat einige Tage brauchbar erhält; Thymol ist weniger zu empfehlen. Mit dem Filtrat wird dann, wie dies TAGUCHI für seine wässerige Masse beschreibt, ein Stück Stangentusche auf einem feinen Reibsteine oder einer matten Glasplatte angerieben, wobei man zweckmässig immer nur einige Tropfen auf die Glasplatte giesst und verreibt, bis die Masse da, wo sie in ganz dünner Schicht ausgestrichen ist, dunkelgrau und etwas dickflüssiger wird oder, nach TAGUCHI, bis sie, »auf dünnes gutes Löschpapier getropft, zusammenhält und keinen grauen Ring um den Tropfen entstehen lässt«. Die Koncentration darf nicht zu weit getrieben werden, weil sonst das Bindemittel zu fein vertheilt wird, um die Körnchen noch zusammenzuhalten, und beim Schneiden doch Streuung eintritt. Diese kleinen angeriebenen Mengen werden direkt in der Spritze gesammelt.« Als Spritze dient eine kleine Schraubenspritze mit feinen Kanülen wie für feine Injektionen mit TEICHMANN'scher Masse. Die Tuschstange muss nach dem Gebrauche abgewischt werden, da beim Eintrocknen der Flüssigkeit die oberflächlichen Theilchen leicht abspringen und die Spritze wie auch die Gefässe leicht verstopfen. Ausser in Formollösung, welche nur in Verbindung mit MÜLLER'scher Flüssigkeit oder Pikrinsäure anwendbar ist, gerinnt die Masse in allen gebräuchlichen Fixirungsflüssigkeiten. Es lassen sich mit derselben die verschiedensten Organe gut und leicht injiciren mit Ausnahme der Leber, in welcher sich die Tuschkörnchen ganz unregelmässig niederschlagen.

Ueber die kaltflüssigen Gelatinemassen von JOSEPH, FOL und TANDLER ist unter den Leimmassen nachzulesen.

Leimmassen.

Historisches. Nicht lange nach der Einführung der Wachs- und Fettmassen in die anatomische Technik beschrieb ROUHAULT als erster eine Leimmasse zur Injektion der Gefässe. Die Idee hierzu hatte er von MÉRY (Professor der Anatomie am Hôtel-Dieu in Paris, gestorben 1722) erhalten, nachdem er zuvor bereits verschiedene andere Injektionsverfahren versucht hatte, ohne, wie es scheint, zu dem gewünschten Resultate gelangt zu sein. Die ersten gute Erfolge erzielte er mit der neuen Masse bereits im Jahre 1716. Trotzdem veröffentlichte er seine Methode nicht, weil er seine Injektionen für geringwerthiger hielt als diejenigen von RUYSCH. Die Publikation der Methode erfolgte erst im Jahre 1718. Hiernach bestand seine Masse aus Genter Leim und Fischleim (colle de Gand et colle de poisson). Nähere Angaben über die Quantität des Leims und die Färbung desselben fehlen in der kurzen Mittheilung. Doch hat ROUHAULT offenbar schon verschiedene Farbstoffe benutzt, da er doppelte Injektionen ausführte: »J'ai injecté les veines et les artères de differentes couleurs, ce que l'on n'avait pas encore fait.«

In den folgenden Jahren haben sich die Leimmassen in der anatomischen Technik nur wenig Eingang verschafft, was wohl hauptsächlich daran gelegen haben mag, dass sich dieselben für trocken aufzubewahrende Präparate durchaus ungeeignet erwiesen. Schon MONRO [97]) weist darauf hin, dass die Leiminjektionen nach dem Austrocknen unscheinbar und runzlig werden und überdies zu langsam erstarren (»man kann den Körper nicht so lange aufbewahren, bis der Leim sich verdickt hat«). Daher räth MONRO, wie es später auch VOIGT und BERRES gethan haben, nur die feineren Gefässe, die sich mit Leimmassen sehr gut füllen lassen, mit diesen zu injiciren und dann eine Wachsmasse (VOIGT und BERRES benutzten Harzmassen)

nachzuschicken. In den älteren anatomischen Techniken (Fischer, Shaw) findet man die Leimmassen auch nur unter den »feinen« oder »zarten« Injektionsmassen angeführt, weil mittels derselben immer nur feinere Gefässe gefüllt wurden. Trotzdem haben jene Injektionsmassen bei mikroskopischen Untersuchungen eine nur beschränkte Anwendung gefunden, weil dieselben ausschliesslich mit opaken Farbstoffen zubereitet waren, die eine Betrachtung der Präparate nur bei auffallendem Lichte und schwachen Vergrösserungen zuliessen.

Einen wesentlichen Fortschritt bedeutete daher die Einführung von transparenten Farbstoffen in die Leimmassen. Wie in dem folgenden, von den transparenten Massen handelnden Abschnitt noch näher ausgeführt werden wird, hat Gerlach als erster die durchscheinende Karminmasse und fast gleichzeitig mit diesem Schroeder van der Kolk eine blaue Masse zu Injektionen angewandt. Seitdem sind diese Massen noch wesentlich vervollkommnet und noch mehrere andere Farbstoffe zur Färbung eingeführt worden.

Verwendung der Leimmassen. Die Verwendbarkeit der Leimmassen ist keine so vielseitige wie die der kaltflüssigen wässerigen Massen. Infolge ihrer höheren Konsistenz eignen sie sich nicht zur Injektion von feinen Drüsengängen sowie von Lymphgefässen. Für die Injektion der Blutgefässe muss auch noch insofern eine Einschränkung gemacht werden, als sich mit den warmen Leimmassen nur frisch getödtete warmblütige Thiere gut injiciren lassen. Bei Leichentheilen von Thieren und Menschen, die stets erst behufs Injektion mit warmen Leimmassen vorgewärmt werden müssen, sind die Injektionsresultate weniger günstig. Bei wechselwarmen Wirbelthieren, sowie überhaupt bei niederen Thieren, bei denen eine Erwärmung infolge der eintretenden Muskelstarre unausführbar ist, wird man von dem Gebrauche der warmen Leimmassen am besten absehen.

Bereitung des Vehikels. Nach Monro sind alle Sorten von Leim zur Bereitung von Injektionsmassen anwendbar. Fischleim, der meist aus Hausenblase bereitet wurde, ist in der modernen Technik ganz verlassen worden, derselbe wurde angewandt von Rouhault, Monro, Shaw, Berres, Strauss-Durckheim. Am häufigsten benutzte man früher Tichlerleim, von denen der Genter Leim (Rouhault) und der Kölner Leim (Voigt) wohl nur eine bessere Sorte darstellen. Neuerdings wird speciell zur Bereitung der transparenten Massen nur noch Gelatine benutzt. Die früher käuflichen Leimsorten waren für diese Massen nicht verwerthbar, weil dieselben zu unrein und zu intensiv braun waren. Die jetzt im Handel vorhandenen feineren Leimsorten würden sich zu den Massen wohl ebenso gut eignen wie Gelatine. Von letzterer verwendet man meist die unter dem Namen »französische Gelatine« käufliche Sorte, nur Fol empfiehlt die zu photographischen Zwecken dienende Gelatine Simeon's.

Bezüglich der Menge des zur Masse benutzten Leims, respektive der Gelatine lauten die Angaben der Autoren ausserordentlich verschieden. In der That ist es auch schwer zu bestimmen, wie viel Leim zu einer Masse genommen werden soll. Man lässt daher besser das Gewichtsverhältniss des Leims ausseracht und richtet sich nach der Konsistenz der Leimlösung. Im allgemeinen wird man sich stets eine koncentrirtere Lösung bereiten, weil dieselbe ja durch den Zusatz von in Wasser suspendirten oder gelösten Farbstoffen dann noch genügend verdünnt wird. Sollte die Masse dennoch zu dickflüssig sein, so kann derselben immer noch etwas Wasser zugesetzt werden. Vor zu grosser Verdünnung ist zu warnen, weil solche Massen nach der Fixirung zu sehr zusammenschrumpfen und unscheinbar werden. Konsistentere Massen sind stets vorzuziehen. Man erhält eine entsprechende Konsistenz der Masse, wenn man bei der Bereitung derselben den Leim oder die Gelatine höchstens 2 Stunden in Wasser aufquellen lässt (Ranvier

lässt Gelatine nur ½—1 Stunde quellen), das Wasser dann abgiesst und den Leim in der Wärme löst. Lässt man Leim oder Gelatine 24 Stunden quellen, so nehmen dieselben zu viel Wasser auf, so dass die Masse dann zu dünnflüssig wird. Dass man speciell bei der Bereitung von transparenten Massen nur destillirtes Wasser benutzen darf, braucht kaum hervorgehoben zu werden.

Die meisten Autoren fügen ausser den Farbstoffen keine weiteren Reagentien, wie Glycerin, zu den Leimlösungen hinzu, und zwar wohl aus dem Grunde, weil ein Zusatz von Glycerin beim Injiciren selbst keinen nennenswerthen Vortheil bietet und weil glycerinhaltige Massen sich noch schwerer aufbewahren lassen als glycerinlose. Indessen ist ein Zusatz von Glycerin nur zu empfehlen, weil dasselbe, wie wir sogleich sehen werden, bei der Konservirung der Massen, die heutzutage sehr gut möglich ist, von sehr günstigem Einfluss ist. Robin, welcher das Glycerin zuerst als Zugabe zu den Massen empfohlen hat, fügt der Leimlösung eine Quantität von Glycerin hinzu, welche der Hälfte des Gewichts des zur Lösung des Leims nöthigen Wassers entspricht, und bereitet überdies die Farblösungen noch mit sehr viel Glycerin. Durch diese grosse Menge der letzteren wird die Injektionsmasse entschieden zu sehr verdünnt. Nach den Angaben von Hoyer ist ein Zusatz von 5—10 Volumprocent Glycerin vollkommen ausreichend.

Opake Massen.

Farbstoffe für opake Massen. Die von den Autoren angegebenen Farbstoffarten sind sehr zahlreich. Aus leicht verständlichen Gründen werden diejenigen bevorzugt, welche die intensivste Farbe besitzen, am dauerhaftesten sind und die schärfsten Kontraste hervorrufen, d. i. die rothen, gelben, weissen und schwarzen. Blaue oder grüne Farbstoffe werden seltener benutzt. Zu den gebräuchlichsten gehören Zinnober, Karmin, Chromgelb, Gummigutta, Blei- oder Zinkweiss, schwefelsaures Baryum, Lampenschwarz, Kobaltblau und Berlinerblau.

Die käuflichen Farbstoffe, wie Zinnober, Kobaltblau müssen vor dem Gebrauch sehr fein zerrieben und dann noch am besten geschlemmt werden. Andere, wie Chromgelb, Berlinerblau und die weissen Farbstoffe werden auf den Rath der Autoren am besten stets frisch hergestellt, weil in den frisch gefällten Niederschlägen die Partikel am feinsten sind, sich dagegen bei längerem Stehen der ausgefällten Substanzen oder beim Trocknen derselben zu gröberen Körnern zusammenballen. Die frisch gefällten Farbstoffe werden mit Wasser flüchtig gewaschen und dann der Leimsolution zugesetzt. Einige Autoren verfahren auch in der Weise, dass sie die vorbereitete Leimlösung in 2 gleiche Volumina theilen und zu jedem derselben die entsprechenden Lösungen von Salzen hinzufügen. Durch Mischung der Leimsolutionen entsteht dann der Farbstoff in dieser selbst. Verschiedene trockene Farbstoffe, wie Indigo, Berlinerblau, Gummigutta, Lampenschwarz müssen nach der Vorschrift von Lauth mit ein wenig Alkohol angerieben werden, weil dieselben sich im Wasser zu sehr zusammenklumpen.

Will man ganz sicher gehen, so seiht man die Masse nach Zusatz der Farbstoffe durch feinen Mousselin vor dem Gebrauche durch.

Für die Quantität der zu der Leimlösung zuzusetzenden Farbstoffe lassen sich ebensowenig wie für die Koncentration der Leimlösung bestimmte Verhältnisse aufstellen. Man wird im allgemeinen so viel Farbstoff zusetzen, dass die Masse intensiv gefärbt erscheint. Ein Ueberschuss von Farbstoff schadet weniger als ein zu geringer Zusatz. Daher rathen auch Shaw und Voigt z. B. von Zinnober »sehr viel« zum Leime hinzuzufügen.

Konservirung der Leimmassen. Falls in einem Laboratorium häufiger Injektionen ausgeführt werden, ist es angenehmer und bequemer, stets

verschiedenfarbige Massen zur Injektion in Bereitschaft zu haben, als dieselben jedesmal frisch herzustellen. Bevor eine gute Konservirungsmethode bekannt war, verzichteten die meisten Autoren auf den bei jeder Injektion übrig bleibenden Rest der Masse oder befolgten den Rath HYRTL's, sich immer nur so viel Masse zu bereiten, als zu einer Injektion nothwendig sei, weil der Ueberschuss bald verderbe. Nur wenige Autoren haben sich mit der Konservirungsfrage näher beschäftigt und haben Rathschläge und Vorschriften ertheilt, die sich jedoch nicht alle in der Praxis bewährt haben. Am wenigsten umständlich und dabei am sichersten ist die Konservirungsmethode von HOYER.[72, 73]) Dieselbe beruht darauf, dass den Leimmassen, nachdem dieselben bereitet sind, Chloralhydrat in koncentrirter Lösung oder auch in Krystallen in einem Verhältniss von mindestens 2 Gewichtsprocenten hinzugesetzt wird. Das Chloralhydrat beeinträchtigt nicht im mindesten das Lösungsvermögen der Massen, nachdem sie starr geworden sind, verändert dieselben nicht, wirkt nicht schädlich auf die injicirten Gewebe und schützt die Masse jahrelang vor Fäulniss. Es ist auffallend, dass dieses Mittel bisher keine häufigere Verwendung gefunden hat.

Am einfachsten erscheint das Verfahren von FOL[47, 48]), wonach die fertige glycerinlose Leimmasse getrocknet wird. In diesem Zustande lässt sich die Masse nach den Angaben des Autors unbegrenzt lange aufbewahren. Wie jedoch Referent aus Erfahrung weiss, bleibt die Masse in dem getrockneten Zustande selbst in einem geschlossenen Gefässe auf die Dauer vor Verschimmelung nicht bewahrt und löst sich überdies selbst nach langdauernder Quellung sehr schwer.

FREY[50]) empfiehlt, die Gelatine bei der Bereitung der Masse in Wasser zu lösen, dem ein wenig Karbolsäure zugesetzt wird. Doch beeinträchtigt die Karbolsäure einerseits das Lösungsvermögen der Gelatine und verhindert andererseits wenigstens nicht auf die Dauer das Schimmeln derselben.

Aehnlich verfährt ROBIN[114]), welcher die Gelatine in mit arseniger Säure versetztem Wasser löst und derselben noch nach ihrer Lösung einige Tropfen Karbolsäure hinzufügt. Um die Masse längere Zeit aufzubewahren, füllt R. dieselbe in eine grössere weithalsige Flasche, so dass über dem Niveau der Masse noch ein beträchtlicher Raum frei bleibt. An dem gut schliessenden Stopfen wird ein kleiner Schwamm angebracht, der mit Alkohol und Terpentin getränkt wird. Der Schwamm darf jedoch die Masse nicht berühren. Diese Art der Aufbewahrung erscheint ganz rationell, doch fehlen dem Referenten darüber eigene Erfahrungen.

Weniger gut ist die Konservirungsmethode von HARTING[63]), der die Gelatinemasse in einer Flasche unter Alkohol aufbewahrt. Hierdurch wird die Lösung der Masse sehr erschwert, weil dieselbe erst durch vielfaches Auswässern von dem Alkohol befreit werden kann.

THIERSCH[149]) fügt dem Lösungswasser der Gelatine schwefelsaures Chinin zu, und zwar 0.25 Grm. auf 60 Grm. trockenen Leims. Ausserdem lässt er in der erwärmten Leimsolution Kampherstücke sich lösen und setzt zu der fertigen Injektionsmasse noch einige Kampherstücke hinzu. Schliesslich legt er auf die bereits erstarrte Masse noch Kampher. Auch diese Aufbewahrungsmethode ist nicht sicher, da weder Chinin noch Kampher auf die Dauer vor Fäulniss schützen.

TANDLER[145]) setzt seiner kaltflüssigen Jodkalium-Gelatinemasse einige Thymolkrystalle zur Konservirung hinzu. Der wirksame, die Fäulniss aufhaltende Bestandtheil ist in diesem Falle wohl das Jod, welches, wenigstens dem Geruche nach zu urtheilen, in geringen Mengen frei wird.

Fixirung der Injektionspräparate. Das gebräuchlichste Fixirungsmittel für Leiminjektionspräparate ist Alkohol. Da es bei der Fixirung derartiger Präparate weniger auf die feinere Struktur der Gewebe, als vielmehr auf die Vertheilungsart der Gefässe ankommt, und da die Präparate stets nur in dickeren Schnitten und mit schwachen Vergrösserungen betrachtet werden, so ist auch diese Methode der Fixirung am meisten zu empfehlen. Ausser dem Alkohol käme nur noch das Formol in Betracht, über dessen Leistungsfähigkeit bei der Fixirung von Injektionspräparaten allerdings noch keine weiteren Erfahrungen vorliegen.

Opake Massen. Die im folgenden aufgeführten speciellen Vorschriften zur Bereitung der opaken Leimmassen sind nach der Häufigkeit des Gebrauches der Farbstoffe geordnet.

Rothe Massen. Shaw[129]) empfiehlt für feine Injektionen, besonders von mukösen Membranen, Darmschleimhaut, Nieren, Hoden, Nase, Knochen durchsichtigen Leim aus Pergamentspähnen oder auch Fischleim, welchen er im Wasserbade schmilzt, durchseiht und dann stark mit Zinnober röthet. Man darf mit der Masse keinen ganzen Körper injiciren, sondern nur Theile desselben. Aufbewahrung der Präparate in Spiritus.

Lauth[84]) sagt: »Die eindringendste Injektionsmasse, welche ich kenne und deren ich mich gewöhnlich bediene, ist feiner in Wasser aufgelöster Leim.« 1 Gewichtstheil Leim lässt man in 3 Gewichtstheilen Wasser 24 Stunden aufweichen und verflüssigt ihn dann in der Wärme. Zu einem Pfund Leimmasse verwendet man $3^1/_2$ Unzen = 102,31 Grm. Zinnober.

Strauss-Durckheim[138]) empfiehlt für feinere Massen Gelatine, von welcher man im Sommer 12 Theile auf 100 Wasser, im Winter 7 auf 100 nimmt. Die beste Leimmasse erhält man aus Fischleim, den man vor dem Gebrauche in mehrmals gewechseltem Wasser aufquellen lässt. Zur Färbung desselben benutzt S. Karmin und Krapplack.

Hyrtl[76]) lässt 4 Loth = 62,48 Grm. feinen Tischlerleims durch 24 Stunden in Wasser weichen und löst denselben dann in einem halben Quart = 0,57 Liter destillirten Wassers. Als Farbstoff eignet sich am besten sehr fein zerriebener Zinnober.

Beale[8]) nimmt 1 Unze = 31,10 Grm. Gelatine auf 12 Unzen = 373,24 Grm. Wasser und färbt mit Zinnober.

Harting[63]) räth, concentrirte Leimlösungen aus feinem Leim oder Gelatine zu bereiten (1 Theil Leim auf 4 Theile Wasser), die dann nach Belieben verdünnt werden können. Als Farbstoffe benutzt er rothes Schwefelantimon, Quecksilberjodid, basisch chromsaures Blei und Zinnober.

Das rothe, frisch bereitete Schwefelantimon ist sehr feinkörnig, nur wirkt das immer darin vorhandene Schwefelwasserstoffgas nachtheilig auf die messingenen Spritzen. Man nimmt 1 Theil davon auf 12 Theile Wasser, zerreibt dasselbe tüchtig und lässt es sich in einem Spitzglase absetzen. Sobald sich ein Drittel davon abgesetzt hat, vermischt man den im Wasser suspendirten Rest mit 12 Theilen concentrirter Leimlösung. Das Quecksilberjodid wird in folgender Weise bereitet: »*a)* 1 Unze $5^1/_3$ Drachmen (= 48,72 Grm.) Quecksilberchlorid werden in Wasser gelöst, so dass das Ganze dem Volumen von 32 Unzen (= 935,42 Grm.) gleichkommt. *b)* 2 Unzen = 58,46 Grm. Jodkali werden in Wasser gelöst, so dass das Ganze dem Volumen von 8 Unzen (= 233,86 Grm.) Wasser gleichkommt. Zur Injektion werden 4 Masstheile der Solution *a*, 1 Theil der Solution *b* und 4 Theile der concentrirten Leimsolution gemischt.« In den feinsten Gefässen erscheint die Masse allerdings gelb.

Das basisch chromsaure Blei hat zwar eine sehr lebhafte Farbe, zu feinen Injektionen ist es indessen zu grobkörnig und zu schwer.

Von den rothen Farbstoffen ist Zinnober am meisten zu empfehlen. Derselbe muss fein zerrieben und geschlemmt werden, nachtheilig wirkt seine Schwere. 1 Theil chinesischen Zinnobers wird mit 8 Theilen Wasser zusammengerieben. Man lässt dann das Gemenge einige Augenblicke in einem Spitzglase stehen, bis sich etwa $^1/_3$ des Zinnobers abgesetzt hat. Die darüber stehende Flüssigkeit wird mit 8 Theilen concentrirter Leimlösung vermischt.

Frey.[50]) Eine feine Sorte Zinnober wird, mit kleinen Quantitäten beginnend, in einer Reibschale unter allmählichem Zusatz von Wasser möglichst sorgfältig verrieben. Zur Erhöhung des Kolorits kann man ein wenig Karmin mit verreiben. Der Farbstoff wird alsdann in eine warme Leimlösung eingetragen. Anfänger nehmen oft zu wenig Farbstoff. »Eine gute Zinnoberinjektion muss ein zusammenhängendes korallenartiges Roth ergeben.« Vor dem Gebrauch muss die Masse gut umgerührt werden, weil sich der Zinnober wegen seiner Schwere schnell absetzt.

Robin[114]) nimmt 50 Grm. Gelatine auf 300 Grm. Wasser, in welchem arsenige Säure gelöst ist; sobald die Gelatine im Wasserbade geschmolzen ist, fügt man 150 Grm. Glycerin und einige Tropfen Karbolsäure hinzu. Färbung mit Zinnober.

Davies[30]) empfiehlt Leim, Gelatine oder Leim aus Pergamentspähnen. Als Farbstoff wird fein zerriebener und geschlemmter Zinnober im Verhältniss von 1:8 Leimlösung zugesetzt.

Mall[92]) injicirte die Magengefässe mit einer mit Zinnober gesättigten Gelatinelösung, welche jedoch nur zur Injektion der gröberen Gefässe benutzt wurde, da dieselbe in die Kapillaren nicht eindringt. Bei doppelten Injektionen wurde zuerst mit Berlinerblaugelatine injicirt und dann sogleich durch die Arterien die Zinnobermasse unter sehr hohem Druck nachgeschickt.

Gelbe Massen. Bezüglich der von den Autoren angewandten Quantitäten von Leim oder Gelatine sowie über deren Zubereitung gelten die gleichen Vorschriften wie für die rothen Massen.

Lauth[84]) benutzt $2^1/_2$ Unzen = 73,08 Grm. Gummigutta oder Königsgelb (Chromgelb).

Strauss-Durckheim[138]): Indischgelb.

Beale[8]) bereitet sich das Chromgelb stets frisch aus Bleiacetat und doppelt chromsaurem Kalium. Der feine Niederschlag wird mit warmem Wasser gewaschen und hierauf dem Leim zugefügt.

Harting[63]) bereitet seine gelbe Masse, die von Frey als zweckmässig befunden wird, in folgender Weise: *a)* 4 Unzen $1^1/_3$ Drachme = 121,80 Grm. essigsaures Blei werden in soviel Wasser gelöst, dass das Ganze dem Volumen von 16 Unzen = 467,711 Grm. gleichkommt; *b)* 2 Unzen, 1 Drachme und 28 Gran doppelt chromsaures Kalium werden in soviel

Wasser gelöst, dass das Ganze das Volumen von 32 Unzen = 935,42 Grm. Wasser erreicht. Zum Anfertigen der Injektionsmasse nimmt man 1 Masstheil der Lösung *a*, 2 der Lösung *b* und 2 einer koncentrirten Leimsolution. Zuerst mischt man in einem besonderen Gefässe die beiden Salzlösungen, rührt die Mischung stark um und giesst sie alsdann in die Leimlösung. Die angegebene Ordnung muss eingehalten werden, weil sonst nicht alles Blei präcipitirt wird. Ferner darf die erste Mischung nicht lange stehen bleiben, weil das Präcipitat sonst grobkörnig wird.

Frey[50]) hält das Chromgelb für den besten und am leichtesten zu handhabenden Farbstoff unter allen opaken. Er löst 36 Gewichtstheile Bleizucker in 60 Ccm. Wasser und 15 Gewichtstheile doppelt chromsaures Kalium in 60 Ccm. Wasser, mischt die Lösungen, lässt absetzen, wäscht den Niederschlag mit destillirtem Wasser und trägt denselben in die Leimlösung ein. Ebenso verfährt v. Thanhoffer.[148])

Robin[114]) färbt die Gelatine entweder mit pulverisirtem Chromgelb oder mit Kadmiumsulfür. Letzteres bereitet er sich nach folgender Vorschrift: 40 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kadmiumsulfat und 50 Ccm. Glycerin werden mit 30 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Schwefelnatrium und 50 Ccm. Glycerin gemischt, worauf sich das ausgefällte Kadmiumsulfür alsbald senkt. Von der gut durchgeschüttelten Mischung wird 1 Theil zu 3 Theilen der Leimsolution hinzugefügt. Wegen der Feinkörnigkeit ist diese Masse der Chromgelbmasse überlegen, trotzdem aber nicht transparent.

Davies[30]) mischt 1 Theil käuflichen Chromgelbs mit 6 Theilen Leimlösung oder bereitet die gelbe Masse nach folgenden Vorschriften: Bleiacetat 380 Gran = 22,54 Grm., doppelt chromsaures Kalium 152 Gran = 9,26 Grm., Leim 8 Unzen = 233,86 Grm. Man löst das Bleiacetat in der warmen Leimlösung und setzt das fein gepulverte doppelt chromsaure Kalium hinzu; oder man nimmt Bleiacetat 190 Gran = 11,57 Grm., neutrales Kaliumchromat 100 Gran = 6,09 Grm., Leim 4 Unzen = 116,93 Grm.

Fol[47, 48]) nimmt 60 Gewichtstheile Bleiacetat und 25 Theile doppelt chromsaures Kalium auf je 100 Ccm. Wasser und verfährt im übrigen wie Frey.

Weisse Massen. Lauth[84]) fügt zur Leimsolution $3^1/_2$ Unzen = 102 Grm. Bleiweiss oder Zinkblüte.

Beale[8]) empfiehlt Bleiweiss, welches man sich am besten frisch aus Bleiacetat und Natriumcarbonat bereitet. Der Niederschlag wird ausgewaschen und der Leimlösung zugefügt.

Harting[63]) giebt für kohlensaures Blei folgende Vorschrift: *a)* 4 Unzen $1^1/_3$ Drachme = 121,8 Grm. Bleiacetat werden in Wasser gelöst, dass das Ganze dem Volumen von 16 Unzen = 467,71 Grm. Wasser gleichkommt; *b)* 3 Unzen $1^1/_3$ Drachme = 92,57 Grm. kohlensaures Natron werden in Wasser gelöst, dass das Ganze auch wieder 16 Unzen = 467,71 Grm. Wasser gleichkommt. Zur Injektionsmasse nimmt man 1 Masstheil der Lösung *a*, 1 Theil der Lösung *b* und 2 Theile einer koncentrirten Leimsolution. Diese frisch bereitete Masse dringt besser ein, als eine mit käuflichem Bleiweiss hergestellte. Für gewisse Injektionen bewährte sich H. eine mit Zinkoxyd bereitete Leimmasse besser. 1 Theil Zinkoxyd auf 12 Theile Wasser und 12 Theile einer koncentrirten Leimlösung.

Frey[50]) meint: »Eine brauchbare weisse Masse lässt sich nur schwer erhalten, indem die meisten viel zu grobkörnig auszufallen pflegen.« Leidliche Injektionen hat F. mit fein zerriebenem Zinkweiss erhalten, doch empfiehlt er mehr das schwefelsaure Baryt, welches er sich folgendermassen herstellt: Aus einer kalt gesättigten Lösung von etwa 120—180 Grm. Chlorbaryum wird in einem Glascylinder durch sorgsamen Zusatz von Schwefelsäure schwefelsaures Baryum ausgefällt. Nach längerem Stehen wird die klargewordene Flüssigkeit vom Bodensatz abgegossen und dieser etwa zu dem gleichen Volumen einer koncentrirten Leimlösung zugefügt.

Robin[114]) benutzt als weisse Farbe Silberweiss (Bleicarbonat).

Davies[30]) nimmt Bleiweiss im Verhältniss von 1 auf 5 Theile Leimlösung. Das Bleiweiss stellt er sich in folgender Weise dar: Bleiacetat 190 Gran = 11,57 Grm., Kaliumcarbonat 83 Gran = 5,05 Grm. oder Natriumcarbonat 143 Gran = 8,71 Grm., Leim 4 Unzen = 116,93 Grm. Das Bleiacetat wird in der warmen Leimlösung gelöst und durch Flanell geseiht. In einer kleinen Quantität Wasser wird das Kalium- oder Natriumcarbonat gelöst und dem Leim zugesetzt.

Tomsa[152]) und Mall[92]) benutzten zu ihren Injektionen Leim mit schwefelsaurem Baryum.

Schwarze Massen. Lauth[84]) nimmt 1 Unze = 29,23 Grm. Lampenschwarz zu seiner Leimlösung.

Davies[30]) nimmt 1 Theil Lampenschwarz auf 12 Theile Leimlösung.

Eichler[38]) benutzt die von Grübler in Leipzig bezogene Masse aus Kienruss und Leim.

Spalteholz[131]): Zur Untersuchung der Gefässe in den Muskeln injicirt S. bei einem Drucke von 80 Mm. Hg zuerst eine Karminmasse und darauf bei 180 Mm. Hg eine aus Tusche, respektive Lampenruss bereitete Masse.

Blaue Massen. Lauth[84]) fügt zu seiner Leimlösung 2—3 Unzen = 58—87 Grm. Indigo oder 4 Unzen = 116 Grm. Berlinerblau hinzu.

Strauss-Durckheim[138]) empfiehlt Indigo und Berlinerblau.

Robin[114]) Berlinerblau.

Davies[30]) nimmt 1 Theil feine Smalte (Kobaltblau) auf 3 Theile Leimlösung.

SPALTEHOLZ[131, 132]) injicirt mit Leim, welcher durch reichlichen Zusatz von Ultramarin intensiv blau gefärbt wird. Eine solche Masse passirt die Kapillaren nicht. In seiner späteren Arbeit giebt SPALTEHOLZ die Bestandtheile der Masse genauer an: seine Leimlösung enthält 10% feinste französische Gelatine, und dazu werden 30 Grm. Ultramarin auf 100 Grm. Leimlösung zugesetzt.

Grüne Massen. HARTING[63]) kennt keinen grünen Farbstoff, den man direkt zu Injektionen benutzen könnte. Um eine grüne Farbe zu erhalten, mischt man eine blaue und eine gelbe Masse zusammen. »Solche Gemenge fallen aber niemals schön aus, und nur im Nothfalle wird man zu ihnen greifen.«

ROBIN[114]) zieht einer Mischung von Gelb und Blau das SCHEELE'sche Grün vor, welches er sich in folgender Weise bereitet: 80 Ccm. einer koncentrirten Lösung von arseniksaurem Kalium werden zunächst mit 50 Ccm. Glycerin gemischt und ferner werden 40 Ccm. einer koncentrirten Lösung von Kupfersulfat mit 50 Ccm. Glycerin gemischt. Die beiden Lösungen werden zusammengegossen und zur Leimlösung zugesetzt. Die mit diesem Farbstoffe ausgeführten Injektionen sind nicht so elegant wie die rothen, gelben und blauen, weil die Farbe weniger intensiv ist. Man muss dem Leim daher mehr Farbstoff zufügen, wodurch die Masse sehr opak wird. ROBIN führt die grüne Masse unter den transparenten an.

Transparente Massen. Mit dem Namen der transparenten Massen bezeichnet man diejenigen, welche den dem Leime zugesetzten Farbstoff in vollkommen gelöstem oder wenigstens in so fein vertheiltem Zustande enthalten, dass sich die Massen bei durchfallendem Lichte homogen oder wenigstens durchscheinend darstellen. Die transparenten Massen eignen sich zu mikroskopischen Untersuchungen unvergleichlich besser als die opaken, weil sie selbst in dicken Präparaten eine hinreichend grosse Menge Licht durchlassen und daher einen besseren Einblick in die Vertheilung der Gefässe gestatten. Die Plasticität der Gefässe, die bei der Betrachtung von mit opaken Massen injicirten Präparaten und bei auffallendem Lichte sehr deutlich hervortritt, geht bei transparenten Massen allerdings verloren, dagegen hinterlassen letztere, wie die Autoren hervorheben, namentlich bei Demonstrationspräparaten wegen ihres schönen Aussehens einen bleibenden Eindruck.

Ueber die Qualität und Bereitung des Vehikels ist bereits in der Einleitung zu dem Abschnitte über Leimmassen das Nöthige angeführt. Auch bezüglich der Konservirung der transparenten Massen und der Fixirung der Präparate gilt das oben Gesagte. Nur den Farbstoffen soll hier eine kurze Besprechung gewidmet werden, weil von deren Zubereitung die Güte der Massen in hohem Grade abhängig ist.

Farbstoffe für transparente Massen. Von rothen Farbstoffen ist das gelöste Karmin bei weitem am häufigsten zur Färbung der Leimmassen benutzt worden. Dasselbe hat sich auch am besten bewährt und übertrifft andere rothe von den Autoren empfohlene Farbstoffe an Schönheit und Intensität der Farbe. Die Art und Weise, wie es am besten angewandt wird, soll unten noch genauer auseinandergesetzt werden. Von blauen Farbstoffen ist das wasserlösliche Berlinerblau respektive Pariserblau der geeignetste, obwohl es keineswegs so einfach ist, mittels dieses Farbstoffes eine vollkommen homogene Masse herzustellen. Die diesbezüglichen Vorschriften sollen unten ausführlich angegeben werden. Von anderen Farbstoffen werden nur noch gelbe, grüne und braune benutzt, und zwar sind die gelben noch am meisten zu empfehlen, da dieselben die übrigen an Intensität der Farbe und Transparenz wesentlich übertreffen. Am geeignetsten erweist sich die mit reducirtem Silber hergestellte Masse von HOYER und die halbtransparenten mit Chromgelb bereiteten Massen.

Bereitung der transparenten Karminmasse. Das Karmin wurde von GERLACH[66]) nicht nur in die mikroskopische Tinktionstechnik, sondern auch in die Injektionstechnik eingeführt. Da das von ihm zur Injektionsmasse benutzte Karmin ein transparenter Farbstoff war, so knüpft sich an

den Namen GERLACH's auch die Einführung der transparenten Injektionsmassen überhaupt.*

Bei der Bereitung der rothen Masse verfährt man im allgemeinen in der Weise, dass eine Quantität von Karmin mit etwas Wasser angefeuchtet und alsdann in Ammoniak gelöst wird. Hierauf kann die Lösung der Gelatinesolution zugesetzt werden. Da aber die Karminlösung, respektive die damit versetzte Gelatinelösung mehr oder weniger alkalisch ist, so diffundirt dieselbe leicht durch die Gefässwände, was offenbar schon von GERLACH beobachtet worden ist, da er von der Färbung der Kerne spricht. Es ist deshalb nothwendig, die Masse möglichst neutral zu machen, was von den verschiedenen Autoren in der verschiedensten Weise erreicht worden ist. Die meisten neutralisiren entweder die Karminlösung oder die Karminleimmasse durch Zusatz von verdünnter oder koncentrirter Essigsäure, was, wie aus den zahlreichen Vorschriften hierfür hervorgeht, keineswegs einfach ist. Bei der Neutralisirung wird nämlich der richtige Grad zu leicht überschritten, die Lösung wird dann schwach sauer, und das Karmin fällt allerdings sehr fein vertheilt körnig aus. Andere Autoren, wie THIERSCH, STEIN, HOYER, erzielen die Neutralisation einfach durch Verdunstenlassen des Ammoniaks. Es ist dies zweifellos die sicherere und eine nach den Erfahrungen des Referenten ganz untrügliche Methode. Nach HOYER's Angabe verfährt man dabei folgendermassen: Die ammoniakalische Karminlösung wird in einer Kolbenflasche im Sandbade so lange erwärmt, bis sich das überschüssige Ammoniak verflüchtigt hat. »Solange noch freier Ammoniak vorhanden ist, bilden sich beim Sieden grosse Blasen in der Flüssigkeit, und letztere zeigt die gewöhnliche dunkel-purpurrothe Färbung des karminsauren Ammoniaks; ist dagegen das ungebundene Ammoniak verflüchtigt, so zeigen sich kleine Bläschen und die ammoniakalische Verbindung beginnt sich zu zersetzen, infolgedessen die Lösung die mehr hellrothe Nuance annimmt. Man lässt nun erkalten, absetzen und trennt schliesslich mittels Filtration den später zu neuer Lösung zu verwerthenden hellrothen Absatz von der ziemlich vollständig neutralen dunklen Flüssigkeit.« Diese wird dann zu der Leimlösung hinzugefügt. Lässt man die Leimlösung erkalten und lässt dieselbe hierauf noch einige Tage (natürlich nach vorausgegangenem Zusatz von Glycerin und Chloralhydrat) in einem offenen Gefässe stehen, dann kann man sicher sein, dass der letzte Rest von Ammoniak sich verflüchtigt hat und dass keine Diffusion mehr statthaben wird.

Will man sich die Mühe der Herstellung der neutralen Karminlösung ersparen, so kann man auch das von HOYER empfohlene und von GRÜBLER in Leipzig schon fertig zu erhaltende trockene Präparat von karminsaurem Ammoniak verwenden, das in Wasser gelöst und der Leimmasse zugesetzt wird. Doch liefert dieses keine so schönen gesättigten Farbentöne wie die frisch bereitete Lösung.

Bei Einhaltung dieser sehr einfachen Vorschriften bleibt die rothe Masse stets vollkommen homogen.

Rothe Leimmassen *a)* mit Karmin. GERLACH'sche Karminmasse nach FREY [50]) citirt: 7 Grm. möglichst feinen Karmins werden mit 4 Grm. Wasser und $^1/_2$ Grm. Aetzammoniak gelöst. Das Gemisch bleibt mehrere Tage lang nicht luftdicht verschlossen

---

* GERLACH hat die Vorschrift für seine Injektionsmasse selbst nicht veröffentlicht. In seiner Arbeit: »Beitrag zur Strukturlehre der Windungen des Kleinhirns« sagt er: »Bereits vor 4 Jahren (also 1854) wurde ich bei Untersuchung der Wandungen injicirter Gefässe darauf aufmerksam, dass die Kerngebilde den Farbstoff [1]) sehr begierig aufnehmen und sich in dieser Beziehung anders verhalten als Zellen und Intercellularsubstanz«, und in der Fussnote zu »Farbstoff«: »Der zu meinen Injektionen mit rother Farbe angewandte Farbstoff ist bekanntlich karminsaures Ammoniak.«

Die Beschreibung der Bereitung der rothen Injektionsmasse wurde erst 1863 von FREY in der ersten Auflage seines Handbuches mit Erlaubniss des Verfassers geliefert.

stehen und wird dann mit einer Solution feiner, weisser, französischer Gelatine zusammengebracht. Diese enthält 6 Grm. Gelatine auf 8 Grm. Wasser. Dann fügt man einige Tropfen Essigsäure hinzu und injicirt die Masse bei einer Erwärmung von 40—45° C.

Harting [63]) empfiehlt die Gerlach'sche Injektionsmasse wegen ihres guten Eindringens und ihrer Durchsichtigkeit. »Beim Zubereiten der Auflösung muss man sich hüten, zu viel Ammoniak zu nehmen, weil der Leim dadurch zum Theil gerinnt und klumpig wird. Besser ist es, man nimmt einen kleinen Ueberschuss von Karmin, lässt die Solution sich setzen und fügt dann von der vorher mit Wasser verdünnten ammoniakalischen Flüssigkeit unter stetem Umrühren der Leimsolution so viel zu, dass eine ziemlich gesättigte Färbung hervorgebracht wird, die sich auch in einer sehr dünnen Lage noch deutlich erkennen lässt.«

Frey [50]) giebt folgende Vorschrift: »Man halte sich eine Ammoniaklösung und eine solche von Essigsäure, von welchen man die zur Neutralisation erforderlichen Tropfenzahlen in leichter Weise vorher bestimmt hat. Etwa 2—2,5 Grm. feinsten Karmins werden mit einer abgezählten Tropfenmenge der Ammoniaklösung (welche man nach Belieben grösser oder geringer nehmen kann) und etwa 15 Ccm. destillirten Wassers in einer Schale unter Reiben gelöst und filtrirt, wozu einige Stunden erforderlich sind und wobei durch Verflüchtigung ein Ammoniakverlust erfolgt. In eine filtirte, mässig erwärmte, koncentrirte Lösung feinen Leimes wird die ammoniakalische Karminsolution unter Umrühren eingetragen, etwas auf dem Wasserbade erwärmt und darauf die zur Neutralisation der ursprünglich benutzten Ammoniaklösung erforderliche Tropfenzahl langsam und unter beständigem Umrühren hinzugegeben. Man erhält so die Ausfällung des Karmins in saurer Leimlösung.« Will man schneller zum Ziele kommen, so löse man das Karmin in Ammoniak, setze den gelösten Farbstoff der heissen Gelatine zu, fälle durch Essigsäure und filtrire das Ganze erst hinterher durch Flanell.

Teichmann [146]) löst Karmin in einem Ueberschuss von Ammoniak, mischt diese Lösung mit einer Leimlösung und fügt dann tropfenweise koncentrirte Essigsäure so lange hinzu, bis eine Farbenänderung eintritt. Man erhält einen Niederschlag, der aber so fein ist, »dass man ihn selbst bei Anwendung der stärksten Vergrösserungsgläser von dem in Ammoniak gelösten Karmin zu unterscheiden nicht imstande ist.«

Thiersch. [149]) Eine Karminlösung von 1 Gewichtstheil Karmin, 1 Liq. ammonii caust. und 3 Wasser wird filtrirt und einer Leimlösung zugesetzt, welche aus 1 Gewichtstheil Leim und 2 Wasser bereitet ist. Man nimmt 1 Gewichtstheil Karminlösung auf 3—4 Theile Leimlösung. Zur Beseitigung des Ueberschusses von Ammoniak träufelt man Essigsäure hinzu und kontrolirt die Reaktion durch den Geruch, bis ein mit Essigsäure benetzter Glasstab keine Nebel mehr zeigt und befeuchtetes Curcumapapier über die Masse gehalten sich nicht mehr bräunt. Auch lässt sich der Ammoniaküberschuss durch vorsichtiges Verdunsten bei 25—30° beseitigen.

Stein [134]) nimmt 3 Theile Karmin, 6 Theile Leim, 30 Theile destillirtes Wasser und so viel Ammoniak, als zur Lösung des Karmins nöthig ist. Der Ueberschuss an Ammoniak wird eventuell auf dem Wasserbade verflüchtigt.

Robin. [114]) Man pulverisirt 3 Grm. Karmin, befeuchtet es mit Wasser und fügt einige Tropfen Ammoniak hinzu. Die Menge des letzteren hängt von seiner Koncentration und der Qualität des Karmins ab. Hierzu giesst man 50 Grm. Glycerin. Alsdann säuert man weitere 50 Grm. Glycerin mit 5 Grm. Essigsäure an. Diese zweite Flüssigkeit fügt man zur ersteren hinzu, bis dieselbe in die saure Reaktion umschlägt. Man prüft dieselbe durch angefeuchtetes Lackmuspapier. Von dieser Lösung fügt man 1 Theil zu 3—4 Theilen Gelatine (siehe oben bei den opaken Massen).

Davies [30]) empfiehlt zur Injektion statt der wässerigen Karminlösung von Beale eine Mischung derselben mit Gelatine. Ausserdem giebt er noch folgende Vorschrift für die Karminmasse: Bestes Karmin 180 Gran = 10,96 Grm., Ammoniak $\frac{1}{2}$ Unze = 14,62 Grm., destillirtes Wasser 3—4 Unzen = 87,70 — 116,93 Grm. Die Mischung wird 24—36 Stunden ohne Hitze digerirt, bis das Karmin gelöst ist. In einer Winchester-Flasche wird eine Marke angebracht, bis zu welcher 16 Unzen = 467,71 Grm. Wasser reichen. In die leere Flasche wird nun die Karminlösung hineinfiltrirt und bis zu der Marke Wasser zugefüllt. Ferner werden 600 Gran = 36,54 Grm. Kalialaun in 10 Unzen = 292,32 Grm. Wasser gelöst und demselben unter beständigem Kochen eine Lösung von Natriumkarbonat zugesetzt, bis ein leichter, beständiger Niederschlag entsteht. Die Lösung wird filtrirt und derselben Wasser bis zu 16 Unzen = 467,71 Grm. zugesetzt. Die Lösung wird gekocht, zu der Karminlösung in der Winchester-Flasche zugefüllt und dann stark geschüttelt. Ein Tropfen dieser Lösung soll auf weissem Fliesspapier keinen Farbenring geben. Ist viel Farbstoff in Lösung, so ist die Flüssigkeit nicht zu gebrauchen. Ist aber die Ausfällung des Farbstoffes vollkommen, so schüttelt man die Flüssigkeit wiederholt längere Zeit und lässt sie dann gut absetzen. Die klare Flüssigkeit wird abgegossen und der Niederschlag wiederholt mit Wasser gewaschen, bis letzteres mit Baryumchlorid keinen oder nur einen geringen Niederschlag giebt. Zur Injektionsmasse nimmt man 24 Unzen = 701,57 Grm. der so zubereiteten Mischung und fügt 3 Unzen = 87,70 Grm. guter Gelatine hinzu, welche man 12 Stunden hindurch darin aufquellen lässt, alsdann erwärmt man das Gemisch behufs Lösung der Gelatine im Wasserbade. Nach den Erfahrungen des Referenten erscheint die Masse ganz brauchbar.

Carter.[35]) Carminum pur. 60 Gran = 3,65 Grm., Liq. ammon. fort. 120 Gran = 7,31 Grm., Acid. acet. glac. 86 Tröpfchen, Gelatinelösung (1 auf 6 Wasser) 2 Unzen = 58,46 Grm., Wasser 1½ Unze = 43,85 Grm. Man löst das Karmin in Ammoniak und mischt die Lösung mit 1½ Unzen = 43,85 Grm. heisser Gelatine. Zum Rest der Gelatine (½ Unze) fügt man die Essigsäure und tropft diese Lösung unter Umrühren zur ersteren.

Klein[79]) hat die Carter'sche Masse in folgender Weise modificirt: 4 Grm. Karmin, 8 Ccm Ammoniak, 8 Ccm. Wasser. Die filtrirte Lösung wird zu dem grössten Theil der Gelatinelösung (1 auf 8 Wasser) zugefügt. Der Rest der Gelatinelösung wird mit 4 bis 5 Tropfen Eisessig angesäuert und der ersteren zugesetzt.

Ranvier[107]) verwirft die Beale'sche wässerige Karminlösung, weil dieselbe in den Gefässen körnige Niederschläge giebt und empfiehlt statt dieser seine Karmin-Gelatinemasse. Das Hauptgewicht wird auf die genaue Neutralisation derselben gelegt. 2,5 Grm. Karmin werden mit etwas Wasser zerrieben und tropfenweise Ammoniak hinzugefügt, bis sich das Karmin gelöst hat. 5 Grm. Leim werden ½—1 Stunde in destillirtem Wasser quellen gelassen, abgespült und im Wasserbade gelöst. Hierzu wird die Karminlösung zugefügt. Die Mischung wird durch tropfenweise eingetragene Essigsäure neutralisirt. Die Reaktion prüft man durch den Geruch; hierauf wird die Masse durch Flanell filtrirt.

Emery (citirt nach Mayer[94]) benutzt die Ranvier'sche Karminmasse, deren Reaktion er bei Zugabe der Essigsäure in der Weise prüft, dass er blaues Lackmuspapier in die Dämpfe hält. Beginnt sich dasselbe zu röthen, so darf keine Essigsäure mehr zugefügt werden.

Ville[154]) ist der Ansicht, dass bei der Lösung von Karmin in Ammoniak ein Theil des letzteren gebunden werde, dass also nur der Ueberschuss neutralisirt werden müsse. Die Säure in der Gelatine lasse sich durch Auswaschen unter der Wasserleitung etwa eine Stunde lang leicht entfernen, wobei aber die Gelatine ganz unter Wasser bleiben müsse. Die Neutralität wird besser als durch den Geruch durch empfindliches violettes Lackmuspapier ermittelt: sobald dieses nur noch ganz langsam blau werde, dürfe man keine Säure mehr zusetzen.

Hoyer.[72, 73]) 1 Grm. Karmin, cirka 1—2 Ccm. starker Ammoniaklösung, 6—8 Ccm. Wasser. Das Karmin wird gelöst und die ammoniakalische Karminlösung in einer Kolbenflasche im Sandbade so lange erwärmt, bis sich das überschüssige Ammoniak verflüchtigt hat (siehe oben pag. 586). Diese Lösung wird zu einer entsprechenden Quantität einer koncentrirten Gelatinelösung hinzugefügt und die Masse auf dem heissen Wasserbade digerirt, bis die dunkelviolettrothe Färbung in eine hellrothe Nuance überzugehen beginnt; man fügt dann 5—10 Volumprocent Glycerin und mindestens 2 Gewichtsprocent Chloralhydrat (in koncentrirter Lösung) hinzu und bewahrt die Masse nach Durchseihung durch Flanell in offener Schale unter einer Glasglocke auf. Durch theilweises Eintrocknen erhält die Masse noch eine günstigere Konsistenz. Hierbei verflüchtigt sich auch noch der eventuell vorhandene Rest des Ammoniaks.

Fol[47]) hält die Konservirungsmethode der Leimmassen durch Zusatz von Chloralhydrat nach Hoyer für unzureichend und giebt für seine Massen folgende 2 Vorschriften an: 1 Kgrm. Simeon's Gelatine für photographische Zwecke wird in Wasser quellen gelassen. Das überschüssige Wasser wird alsdann abgegossen und die Masse im Wasserbade zur Verflüssigung gebracht. Hierauf wird eine koncentrirte Lösung von Karminammoniak unter beständigem Umrühren zugegossen. Auf 1 Kgrm. Leim kommt 1 Liter Karminlösung. Letztere wird in folgender Weise bereitet: Eine starke Ammoniaklösung wird mit 3—4 Theilen Wasser versetzt und soviel Karmin zugegeben, dass ein ungelöster Ueberschuss zurückbleibt; kurz vor dem Mischen mit der Leimlösung wird die Flüssigkeit filtrirt. Dem Leim-Karmingemisch, welches stark nach Ammoniak zu riechen pflegt, setzt man alsdann soviel Essigsäure hinzu, dass die dunkel purpurrothe Farbe in die bekannte blutrothe übergeht. Auf eine genaue Neutralisirung kommt es hierbei nicht an. Man lässt die Masse alsdann gerinnen, zerschneidet sie in Stücke und bindet sie in groben Tüllstoff. Bei energischem Quetschen mit der Hand unter Wasser tritt die Masse in feinen Nudeln durch den Stoff und wird durch mehrstündiges Waschen in einem in fliessendes Wasser gestellten Siebe ausgewaschen und vom Säure- und Ammoniaküberschuss befreit. Die Nudeln werden gesammelt und wieder aufgelöst und die flüssige Masse auf grosse Blätter eines mit Paraffin durchtränkten Pergamentpapieres ausgegossen und getrocknet. Die getrocknete Masse, die sich mit Leichtigkeit vom Papier ablöst, wird in Streifen geschnitten und trocken aufbewahrt. Die trockene Masse besitzt alle Eigenschaften der schönsten frisch bereiteten Leimmasse nach Fol.

Die zweite Vorschrift lautet folgendermassen: Ein Volumen starken Ammoniaks wird mit 3 Volumen destillirten Wassers vermischt und Karminpulver solange hinzugefügt, bis ein auch nach stundenlangem Stehen und Schütteln ungelöster Rückstand übrig bleibt. Letzterer besteht vielfach aus Mehl, Kreide, Gyps Die abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Kampherstückchen in einer gut verschlossenen Flasche aufbewahrt. Die käufliche Gelatine wird in Streifen zerschnitten oder auch noch besser die für photographische Zwecke zubereitete Gelatine genommen. Man lässt die Streifen in einer genügenden Menge der vorher bereiteten Karminlösung aufquellen. Hierauf werden die dunkelroth gefärbten Streifen herausgenommen, ganz kurz abgespült und in Wasser gelegt, welches mit einer Spur Essigsäure versetzt ist. Nach einer Stunde kann man wieder einige Tropfen Essigsäure zusetzen, um das Ammoniak

ganz zu sättigen. Nach einigen Stunden wirft man die blutroth gewordenen Leimblätter in ein Sieb, stellt dasselbe in ein grösseres Gefäss mit Wasser und lässt Wasser mehrere Stunden lang durchrieseln. Hierauf nehme man die Gelatineblätter heraus und trockne sie. Im trockenen Zustande lässt sich die gefärbte Gelatine beliebig lange aufbewahren und braucht dann nur je nach dem gewünschten Koncentrationsgrade in 10—20 Theilen Wasser quellen gelassen und aufgelöst zu werden. Nach Fol ist das erste Verfahren zwar komplicirter, giebt aber bessere und sicherere Resultate.

Eternod.[40]) Nach Eternod ist die Neutralisation der rothen Gelatinemasse sehr schwierig, und da letztere bei Ueberschreitung der Neutralität körnig wird, so verfährt er bei der Bereitung der Masse in der Weise, dass er die in reinem Wasser ausgewaschene Gelatine für mehrere Tage in eine neutrale Karminlösung einlegt und sich mit derselben imbibiren lässt. Alsdann wird die Gelatine in Wasser abgewaschen und im Wasserbade gelöst.

Böhm und v. Davidoff[18]) verreiben 4 Grm. Karmin in 8 Ccm. Wasser und lösen es in Ammoniak. 50 Grm. Gelatine werden auf 12 Stunden in destillirtem Wasser quellen gelassen, dann mit den Händen ausgepresst und in einer Porzellanschale bei ungefähr 70° C geschmolzen. Hierauf fügt man die Karminlösung vorsichtig und unter Umrühren zur Leimlösung. Zu dieser Masse tröpfelt man etwa 25%ige Essigsäure so lange hinzu, bis die dunkelkirschrothe Lackfarbe in eine ziegelrothe und undurchsichtige Farbe eben umzuschlagen anfängt, »was von einem einzigen Tropfen Essigsäure abhängt.« Schliesslich wird die Masse filtrirt.

Rothe Leimmassen *b)* mit anderen Farbstoffen. Von Fol[47]) und Miller[96]) werden 2 rothe Injektionsmassen angegeben, deren rothe Farbe nicht durch Karmin, sondern durch sehr fein vertheiltes metallisches Silber hervorgebracht wird. Die Fol'sche Masse lässt sich nur ganz frisch bereitet verwenden, die Miller'sche gewinnt erst nach längerem Stehen am Lichte an Intensität der Farbe, doch ist dieselbe bei weitem nicht so schön wie die des Karmins.

Fol.[74]) Man löst 14 Grm. Chlornatrium in 200 Ccm. Wasser und lasse darin 50 Grm. Gelatine aufquellen. Der im Wasserbade geschmolzenen Masse zetze man ganz allmählich und unter starkem Schütteln 30 Grm. Silbernitrat auf 100 Ccm. Wasser hinzu. Die feinkörnige weisse Emulsion wird zum Erstarren beiseite gestellt. Dieselbe wird hierauf durch einen feinen Tüllstoff unter Wasser in Nudeln ausgepresst, in fliessendem Wasser gewaschen und dann in der Wärme wieder gelöst. Zur Reduktion des Silbers dient folgende Mischung: Wasser 300 Vol., alkoholische Lösung von Hydrochinon (1 : 20) 82 Vol. und eine wässerige Lösung von kohlensaurem Ammoniak (1: 30) 60 Vol. Die entstehende Farbe ist purpurviolettroth.

Miller[96]) lässt 31 Grm. (1 Unze) Gelatine in 310 Grm. (10 Unzen) Wasser 1 Stunde quellen, löst dieselbe und seiht sie durch Flanell durch. Hierauf vertheilt man die Lösung zu gleichen Theilen auf 2 Gefässe und setzt zu der einen Hälfte 0,13 Grm. (= 2 Gran) Kochsalz, zu der anderen 0,6 Grm. (= 10 Gran) Silbernitrat. Wenn beides gelöst ist, mischt man die beiden Lösungen miteinander und schüttelt 2—5 Minuten heftig. Schliesslich werden noch 0,6 Grm. (= 10 Gran) Citronensäure hinzugefügt. Nach der Angabe von Miller soll die Masse schön purpurroth und vollkommen durchsichtig sein.

Bereitung von transparenten blauen Massen.

Die zur Bereitung der blauen Leimmassen dienenden Farbstoffe sind unter dem Namen Berlinerblau und Turnbull's Blau allgemein bekannt und sind die gleichen, welche auch bei wässerigen Injektionen zur Verwendung kommen; unter der entsprechenden Rubrik sind die näheren Angaben über dieselben nachzusehen. In der in Wasser löslichen Form ist das Berlinerblau von Schroeder van der Kolk in den Fünfzigerjahren zur Färbung der Leimmasse eingeführt worden und ist bis zum heutigen Tage ohne wesentliche Modifikationen beibehalten worden. Das durch Zusatz von Oxalsäure in eine lösliche Form übergeführte. in Wasser unlösliche Berlinerblau wird zu Leimmassen gar nicht mehr benutzt, weil die Oxalsäure die Gewebe zu stark angreift. Ebenso ist das Turnbull's Blau durch das lösliche Berlinerblau gänzlich verdrängt worden, weil es von letzterem durch Schönheit und Intensität der Farbe übertroffen wird. Die Herstellung einer völlig transparenten Leimmasse mit Berlinerblau ist jedoch keineswegs so leicht, weil letzteres ohne besondere Vorsichtsmassregeln mit einer Gelatinelösung gemischt sich stets zusammenklumpt und körnig wird, es sei denn, dass man sehr verdünnte Gelatinelösungen wie Ranvier benutzt. Nach den vielfachen Proben von Hoyer und den Erfahrungen des Referenten erhält man nur

dann eine homogene Masse, wenn man folgendermassen verfährt: Es wird zunächst von der koncentrirten Gelatinelösung eine kleine Quantität in ein Gefäss abgegossen, dieselbe mindestens zur Hälfte mit Wasser verdünnt und dann erwärmt. Zu dieser Gelatinemenge setzt man eine stark verdünnte und erwärmte Lösung von Berlinerblau. Man erhält eine klare, homogene, schwach blaue Lösung, die der ganzen Masse der koncentrirten warmen Gelatinelösung hinzugefügt wird. Bei allmählichem Zusatz einer grösseren Quantität von nur noch mässig verdünnter erwärmter Lösung von Berlinerblau zu dieser Mischung erhält man eine völlig homogene transparente saturirte Masse. Jede Abweichung von dieser Vorschrift ruft eine Koagulation des Leims und eine klumpige Ausfällung des Farbstoffes hervor. Zusatz von Chloralhydrat und Glycerin macht die Masse konservationsfähig; durch theilweise Koncentration beim allmählichen Eintrocknen erhält sie eine geeignetere Konsistenz und gesättigtere Färbung.

Blaue Leimmassen *a)* mit in Oxalsäure gelöstem Berlinerblau. Harting.[63]) Für die Bereitung der Masse ist reines Berlinerblau erforderlich, das man sich entweder selbst herstellt oder das käufliche mit einem gleichen Volumen koncentrirter Schwefelsäure zusammenreibt und dann gründlich auswäscht. Man nimmt dann 1 Theil Berlinerblau, 1 Theil Oxalsäure, 12 Theile Wasser, 12 Theile koncentrirte Leimlösung. Zuerst wird die Oxalsäure in einem Mörser fein gerieben und dann das Berlinerblau zugesetzt. Hierauf wird das Wasser langsam und in kleinen Portionen unter beständigem Verreiben zugefügt. Zuletzt giesst man die Farblösung zum Leim.

Robin[114]) erwähnt nur, dass man das käufliche Berlinerblau in Oxalsäure löst und der Gelatine zufügt.

Davies[30]) nimmt Berlinerblau 73 Gran (= 4,45 Grm.), Oxalsäure 73 Gran (= 4,45 Grm.), Leim 4 Unzen (= 116,93 Grm.) und verfährt sonst wie Harting.

Blaue Leimmassen *b)* mit Turnbull's Blau. Thiersch.[119]) »Man bereitet sich 1. eine Leimlösung, welche auf 2 Theile Wasser 1 Theil Leim enthält; 2. eine gesättigte Lösung von schwefelsaurem Eisenoxydul in Wasser; 3. eine ebensolche gesättigte Lösung von rothem Blutlaugensalz in Wasser; 4. eine gesättigte Lösung von Oxalsäure in Wasser. Nun werden 12 Ccm. der Eisenlösung mit 2 Loth der Gelatinelösung bei 25° R gemischt. In einem zweiten Gefäss mischt man bei gleicher Temperatur 24 Ccm. der Blutlaugensalzlösung mit 4 Loth Gelatinelösung. Dieser letzteren Mischung setzt man zuerst 24 Ccm. der Oxalsäurelösung zu, rührt einigemale mit dem Glasstabe um, um dann sogleich die eisenhaltige Gelatine hinzuzufügen. Es findet nun unter fortwährendem Umrühren und bei einer Temperatur von 20—25° R ein allmähliches Ausfällen der blauen Farbe statt, welche im Status nascens von der Oxalsäure suspendirt wird. Da sich aber auch grössere Flocken bilden, so erhitzt man schliesslich im Wasserbade bis auf etwa 70° R und filtrirt dann durch Flanell.« Die Masse wird von Frey empfohlen.

Fol[47]) hat die Masse von Thiersch in folgender Weise modificirt: 120 Ccm. einer kalt gesättigten Lösung von schwefelsaurem Eisenoxyd werden mit 300 Ccm. der heissen Leimlösung vermischt. In einer anderen Schale werden 600 Ccm. der Leimlösung mit 240 Ccm. einer gesättigten Oxalsäurelösung und dann noch mit 240 Ccm. einer kalt gesättigten Lösung von rothem Blutlaugensalz vermischt; man trägt allmählich unter starkem Schütteln das erste Gemisch in das zweite ein, erhitzt das Ganze eine Viertelstunde im kochenden Wasserbade, lässt die Masse gerinnen, presst sie in Nudeln aus, wäscht sie und breitet dieselbe auf Wachspapier aus. Es müssen die Nudeln in diesem Falle direkt eingetrocknet werden, weil sich die Masse ohne Oxalsäurezusatz nicht gut einschmelzen lässt. Will man die trockene Masse gebrauchen, so lasse man sie in kaltem Wasser quellen und setze beim Erwärmen so viel Oxalsäurelösung hinzu, als nöthig ist, um die vollständige Verflüssigung herbeizuführen.

Blaue Leimmassen *c)* mit löslichem Berlinerblau. Schroeder van der Kolk citirt nach Harting.[63]) Schroeder bereitet sich die Masse in der Weise, dass er zunächst schwefelsaures Eisenoxydul mittels Schwefel- und Salpetersäure in das Oxydsalz umwandelt. Letzteres mischt er mit Kaliumeisencyanür und Leim. Statt des schwefelsauren Eisenoxyds kann nach Harting ebensogut Eisenchlorid genommen werden. Ferner wird noch angegeben, in welcher Weise das lösliche Präparat von Berlinerblau erhalten wird. In Anbetracht der Umständlichkeit des Herstellungsverfahrens darf wohl von den Einzelheiten der Vorschrift abgesehen werden, zumal da bei der Mischung der Farbstoffe mit der koncentrirten Leimlösung doch nur eine körnige Masse resultirte. In der mit Turnbull's Blau hergestellten Masse sieht Harting keine Vorzüge.

W. Müller[99]) bereitet die blaue Masse durch Auflösen von 1 Theil Leim in 8 Theilen einer »nicht zu koncentrirten« Lösung des sogenannten löslichen Berlinerblaus.

Brücke[22]) giebt zunächst zwei Vorschriften an, nach denen er sich das lösliche Berlinerblau bereitet hat. Zu der koncentrirten Lösung des Farbstoffes setzte er nur so viel

Leimlösung hinzu, dass die Masse in der Kälte eben gelatinirte. Erwärmte man die Masse vor der Injektion auf etwa 60° C und füllte dieselbe in eine erwärmte Spritze ein, so brauchte das Objekt nicht vorgewärmt zu werden.

Robin[114]) zieht die etwas modificierte Beale'sche Vorschrift allen anderen vor: 90 Ccm. einer Lösung von Kaliumeisencyanür (im Original steht »sulfocyanure de potassium« — Rhodankalium!) und 50 Ccm. Glycerin werden vorsichtig mit 3 Ccm. Eisenperchlorid von 30° und 50 Ccm. Glycerin gemischt. Diese Mischung wird im Verhältniss von 1 : 3 zur Gelatinelösung zugesetzt. Sowohl zur Masse als auch zum Alkohol, in welchem die injicirten Stücke fixirt werden sollen, räth Robin, einige Tropfen Salzsäure zuzufügen.

Klein[79]) benutzt zur Injektion der Lunge von der A. pulmonalis aus eine Masse, welche aus 2 Theilen Berlinerblau und 100 Gelatinelösung besteht.

Rutherford[118]) löst 33 Grm. Gelatine in 200 Ccm. destillirtem Wasser und fügt dazu vorsichtig 4 Grm. lösliches Berlinerblau in 300 Ccm. Wasser.

Ranvier.[107]) Für die Injektion muss die Lösung des Berlinerblaus gesättigt sein. Zur Gelatinemasse nimmt man 25 Theile Berlinerblau auf 1 Theil festen Leims. Der Leim wird für eine halbe bis eine Stunde in destillirtem Wasser quellen gelassen, alsdann ausgewaschen und in einem Becherglase im Wasserbade gelöst. Das Berlinerblau wird in einem anderen Glase ins nämliche Wasserbad gebracht, so dass beide Flüssigkeiten die gleiche Temperatur bekommen. Der Leim wird dann nach und nach in das Berlinerblau gegossen und das Gemisch, das im Wasserbade bleibt, fortwährend mit einem Glasspatel umgerührt. Man fährt fort, zu erwärmen und umzurühren, bis der krümelige Niederschlag, der sich im ersten Augenblick bildet, verschwunden ist. Man erfährt, dass das Blau vollkommen aufgelöst ist, wenn der aus der Flüssigkeit entnommene Glasstab keine blauen Körner mehr auf der Oberfläche zeigt. Das Gemisch wird dann durch neues Flanell filtrirt und wieder auf dem Wasserbade bis zu einer Temperatur von ungefähr 40° erwärmt, bis man mit der Injektion beginnt. Der Niederschlag, welcher sich immer auch mit dem besten Leim bildet, verschwindet, wenn man mit dem Erhitzen fortfährt. Es ist dies nach Ranvier ein sehr wesentlicher Punkt.

Eichler[38]) benutzt zur Injektion des Gehörorgans eine Masse, welche aus 250 Ccm. einer 2%igen Lösung von Berlinerblau und 50 Grm. Leim in 250 Ccm. Wasser besteht. Dieselbe wird durch die Arterien in die Kapillaren und Venen injicirt und dann zur Füllung der Arterien noch eine aus Kienruss und Leim bestehende Masse nachgeschickt.

Hoyer[72, 73]) bereitet eine koncentrirte Gelatinelösung und eine koncentrirte Lösung des käuflichen, löslichen Berlinerblaus. Wie oben bereits ausgeführt wurde, werden gesonderte Quantitäten von beiden stark verdünnt, erwärmt und dann das Berlinerblau zu der Leimlösung zugefügt. Diese Mischung wird allmählich zu der koncentrirten Gelatinlösung und zu dieser dann erwärmtes und verdünntes Berlinerblau zugesetzt, bis die Masse eine genügende Intensität besitzt. Hierauf werden 5—10 Volumprocent Glycerin und mindestens 2 Gewichtsprocent Chloralhydrat in Krystallen oder koncentrirter Lösung zugefügt. Lässt man die Masse längere Zeit vor Staub geschützt an der Luft stehen, so erhält sie eine noch geeignetere Konsistenz und intensivere Färbung.

Gelbe Leimmassen. Thiersch[119]) bereitet 1. eine Lösung von Gelatine (1 Theil Gelatine auf 2 Theile Wasser); 2. eine Lösung von 1 Theil (neutralem) chromsaurem Kalium in 11 Theilen Wasser; 3. eine Lösung von 1 Theil salpetersaurem Bleioxyd auf 11 Theile Wasser. Man mischt 5 Theile Leimlösung mit 2 Theilen der Bleisalzlösung, in einem zweiten Gefäss 4 Theile Leimlösung mit 1 Theil chromsaurer Kaliumlösung. Beide Mischungen bringt man auf 25° R und vermengt sie unter fortwährendem Umrühren. Nach beendigter Ausfällung des Chrombleies erhitzt man im Wasserbade auf 70° R und filtrirt durch Flanell. Harting und Hoyer finden diese Masse für feine Kapillarinjektionen nicht dunkel genug. Auch soll nach Harting der Farbstoff leicht »durchschwitzen«.

Nach Harting[63]) giebt die Masse von Thiersch, mit einer Karminsolution gemischt, ein lebhaftes Orange.

Hoyer[70]) zieht seine Masse der Thiersch'schen vor, weil sie einerseits leichter herzustellen ist und andererseits sich durch ihre gesättigte Farbe in den Gefässen besser markirt. Dieselbe besteht aus: 1 Vol. Gelatinelösung von 1 Theil Gelatine auf 4 Theile dest. Wassers, 1 Vol. einer kalt gesättigten Lösung von doppelt chromsaurem Kalium, 1 Vol. einer kalt gesättigten Lösung von neutralem essigsauren Bleioxyd (Bleizucker). »Der Hauptkunstgriff, auf den es wesentlich ankommt, um eine gleichmässige, höchst feinkörnige Vertheilung des Chromgelbs zu erzielen, besteht darin, dass man die Lösung des chromsauren Kali zunächst mit der durch Flanell filtrirten Leimlösung mischt und bis fast zum Sieden erwärmt und dann erst allmählich die gleichfalls erwärmte Bleilösung zusetzt. (Man kann die Bleilösung auch zunächst mit einem Theile der Leimlösung mischen und alsdann der mit chromsaurem Kali versetzten erhitzten Leimlösung unter starkem Rühren allmählich hinzufügen.) Die hierauf zur Körperwärme abgekühlte Masse ist sofort zur Injektion zu benutzen.«

Nach Davies[30]) empfiehlt Dr. Goadby zur gelben Masse statt des Bleiacetats salpetersaures Blei zu nehmen, weil das in der anderen Masse entstehende Kaliumacetat die Gewebe angreife, während das salpetersaure Kalium die Gewebe eher konservire. Die einzelnen Bestandtheile der Masse werden in folgendem Verhältniss genommen: Gelatine 2 Unzen (= 58,46 Grm.), Wasser 8 Unzen (= 233,85 Grm.), koncentrirte Lösung von salpetersaurem Blei 8 Unzen (= 233,85 Grm.), Kaliumbichromat 8 Unzen (= 233,85 Grm.).

Robin.[114]) Die von Robin als transparent bezeichnete Kadmiummasse sei hier nur erwähnt. Da dieselbe von Frey als grobkörnig bezeichnet wird, so ist sie unter den opaken Massen angeführt worden (pag. 584).

Hoyer[72, 73]) giebt noch eine zweite Vorschrift für eine transparente gelbe Masse, welche in den Kapillaren gelb, in gröberen Gefässen bräunlich erscheint und folgendermassen hergestellt wird: Eine concentrirte Gelatinelösung wird mit dem gleichen Volumen einer 4%igen Silbernitratlösung versetzt und erwärmt; darauf wird eine ganz geringe Quantität einer wässerigen Pyrogallussäurelösung zugesetzt, welche binnen wenigen Sekunden das Silber reducirt. Die Masse wird dann mit Glycerin und Chloralhydrat wie die rothen und blauen Massen versetzt und kann lange Zeit hindurch vorräthig gehalten werden. Die Masse verändert sich weder in Alkohol, noch in Chrom- oder Essigsäure, noch in chromsauren Salzen.

Grüne Leimmassen. Thiersch[149]) benutzt hierzu seine gelbe Masse: »Diese vollkommen durchsichtige Injektionsmasse giebt in beliebigen Mengen mit der blauen gemischt transparente grüne Massen von verschiedenen Nuancen.«

Robin[114]) benutzt, wie oben (pag. 585) erwähnt, das Scheele'sche Grün. Damit dasselbe zur Wirkung kommt, muss es der Masse in grösserer Quantität zugefügt werden, wodurch aber die Masse opak wird.

Hoyer[72, 73]) empfiehlt für eine grüne Masse die Mischung der Berlinerblaumasse mit seiner gelben Silbermasse.

Braune Leimmassen. Robin[114]) empfiehlt die von Lener angegebene wässerige braune Masse, welche aber weder so schön noch so transparent ist, wie die rothe Karminmasse. 1. 20 Ccm. concentrirte Lösung von Kaliumeisencyanür, 50 Ccm. Glycerin; 2. 35 Ccm. concentrirte Lösung von Kupfersulfat, 50 Ccm. Glycerin. Man mischt beide Flüssigkeiten unter Umschütteln und fügt davon 1 Theil zu 3 Theilen des Vehikels.

Tomsa[153]) benutzte zur Injektion von Hautgefässen neben blauen Leimmassen auch solche, die entweder mit Eisenoxydhydrat oder Ferrocyankupfer gefärbt waren. »Bei Benutzung des im Wasser löslichen Eisenoxydhydrates als Färbemittel muss die im Dyalisator gewonnene Flüssigkeit nachträglich durch Eindampfen eingeengt werden, weil sonst die Leimlösung unter dem Mikroskope zu hell erscheint. Der grobflockige Niederschlag von Ferrocyankupfer wurde mit oxalsaurem Ammoniak gelöst und die Lösung mit Leim gemengt, aus welchem vorher durch Oxalsäure der Kalk ausgefällt und abfiltrirt war.«

Fol.[47]) »Man lasse 500 Grm. Gelatine in 2 Liter Wasser, in welchem man vorher 140 Grm. Na Cl aufgelöst hat, aufquellen, schmelze die Masse im Wasserbade ein und setze ganz allmählich unter starkem Schütteln eine Lösung von 300 Grm. $AgNO_3$ in 1 Liter destillirten Wassers hinzu. Soll die Masse äusserst feinkörnig sein, so setze man beiden Lösungen das 3—4fache Volumen Wasser hinzu. Die Masse wird in Nudeln gepresst (s. pag. 588) und am hellen Tageslichte mit folgendem Gemisch umgerührt: Kalt gesättigte Lösung von oxalsaurem Kali $1\frac{1}{2}$ Liter und kalt gesättigte Lösung des schwefelsauren Eisenoxyduls 500 Ccm. Die Operation ist beendet, wenn die ganze Masse durch und durch dunkelschwarz geworden ist. Man wäscht mehrere Stunden, schmilzt wieder ein und giesst die Masse in dünner Schicht auf Wachspapier aus. Die Farbe zeigt sich bei durchfallendem Lichte dunkelsepiabräunlich. Will man lieber einen grauschwarzen Ton haben, so setze man in der ersten Lösung 240 Grm. Bromkalium statt des Na Cl zu; die übrigen Operationen sind die gleichen wie bei der rothen oder blauen Masse.« Von den braunen Massen dürfte sich diese Masse noch am besten bewähren, doch liegen über dieselbe keine weiteren Erfahrungen vor.

Böhm und von Davidoff[18]) führen in ihrem Lehrbuche eine Angabe von v. Kupffer an, wonach mit Palladiumchloridlösung behandelte Stücke oder Schnitte von Präparaten, welche zuvor mit Berlinerblau injicirt waren, die blaue Farbe verlieren und eine tiefbraune beständige Färbung erhalten.

Kaltflüssige Gelatinemassen. In dem letzten Abschnitte über wässerige Massen sind bereits mehrere Massen angeführt worden, welche sich dadurch auszeichnen, dass dieselben bei gewöhnlicher Zimmertemperatur injicirt werden und erst nachträglich in den Gefässen unter dem Einfluss der Fixirungsreagentien erstarren. Zu diesen gehören nun noch die sogenannten kaltflüssigen Gelatinemassen, welche sich ebenso wie jene verhalten. Diese Massen haben den Vortheil, dass sie die Lichtung der Gefässe vollkommen ausfüllen, und dass die zu injicirenden Objekte nicht vorgewärmt zu werden brauchen, was besonders bei Injektionen von niederen Thieren von Wichtigkeit ist. Um dies zu erreichen, sind die Autoren in verschiedener Weise vorgegangen. Am einfachsten ist das Verfahren von Brücke, nämlich der Farbstofflösung nur so viel Leimlösung zuzusetzen, dass die Masse in der Kälte eben noch gerinnt. Fol führte die gewöhnliche Gelatine durch Kochen mit Ammoniak in eine bei niedriger Temperatur flüssig bleibende

Modifikation über, die er Metagelatine nennt. Dem Referenten ist es jedoch nicht gelungen, dieselbe herzustellen. Am meisten zu empfehlen ist die Methode von Tandler, nach welcher die Gelatine durch Zusatz von Jodkalium flüssig erhalten wird.

Brücke[32]) setzt der koncentrirten Lösung von Berlinerblau nur so viel Leim zu, dass die Masse in der Kälte eben gelatinirt.

Joseph[78]) empfiehlt ausser dem Hühnereiweiss zu kalten Injektionen ein Gemisch von kaltflüssigem Leim und dem violetten, aus dem Campecheholz-Extrakt mit Alaun bereiteten Farbstoff.

Fol.[47]) »Statt Eiweiss und Albumin, die beide dickflüssig sind und in die Kapillaren schwer eindringen, empfiehlt Fol die Metagelatine. Lässt man eine Leimlösung mehrere Stunden mit geringer Ammoniakzugabe im Wasserbade in Siedehitze verweilen, so geht dieselbe nach und nach in einen Zustand über, wo sie durch Erkältung nicht mehr zur Gallerte gerinnen kann. In diese kaltflüssige Lösung kann man das lösliche Berlinerblau oder das Chromgelb eintragen. Man kann aber auch eine der oben angeführten rothbraunen oder schwarzen Leimmassen solange abkochen, bis das spontane Gerinnungsvermögen verloren gegangen ist. Wird verdünnter Alkohol vorsichtig hineingemischt, so erhält die Masse eine dünnflüssigere Beschaffenheit und lässt sich mit Leichtigkeit bis in die feinsten Kapillarnetze einspritzen. Das Objekt wird alsdann in starken Alkohol oder in Chromsäure gelegt, wo die Metagelatine bald erstarrt.«

Tandler.[145]) 5 Grm. möglichst salzfreier, feiner Gelatine werden in 100 Grm. dest. Wassers zum Quellen gebracht und dann geschmolzen. Zu derselben wird Berlinerblau und dann vorsichtig 5—6 Grm. Jodkalium hinzugefügt. Die Masse bleibt bis zu einer Temperatur von 17° C dünnflüssig. Dieselbe kann mit einigen Thymolkrystallen versehen in einem Stöpselglase monatelang aufbewahrt werden. Die injicirten Objekte werden in 5%iger Formollösung fixirt und die so fixirte Gelatine ist »absolut säure- und basenfest«. So lassen sich z. B. die injicirten Objekte tagelang in einer beliebigen Entkalkungsflüssigkeit halten, ohne dass die Farbstoffe (Berlinerblau oder Karmin) und die Gelatine verändert werden. Das Jodkalium schädigt weder das Protoplasma der Zellen, noch beeinträchtigt es die Färbung. Nach den Erfahrungen des Referenten darf die blaue Masse nicht in einem offenen Gefässe stehen gelassen werden, weil dieselbe sonst abblasst und einen grünen Ton annimmt. Auch löst sich die in Formol fixirte blaue Masse in salzsäurehaltigem Alkohol im Reagensglase auf.

Gelatinemassen, kombinirt mit Lösungen von Silbersalzen. In dem vorliegenden Werke ist der Darstellung der Endothelien mittels Silbersalzen ein gesondertes Kapitel gewidmet. Es soll daher an dieser Stelle nur anhangsweise erwähnt werden, dass bei Gefässuntersuchungen vielfach Kombinationen von Gelatine- und Silbersalzlösungen in Anwendung kommen.

Nachdem man mit Hilfe der Imprägnation mit Silberlösungen erkannt hatte, dass sich die Kapillaren aus Endothelzellen aufbauen, suchte man diese Strukturverhältnisse weiter zu verfolgen. Die Injektionen von einfachen Silbernitratlösungen erwiesen sich zu diesen Untersuchungen ungeeignet, weil die feinen Gefässe nicht genügend ausgedehnt wurden, ferner viel Flüssigkeit in das umliegende Gewebe diffundirte und dasselbe stark bräunte und schliesslich, weil in den Gefässen selbst störende Niederschläge von reducirtem Silber entstanden. Wesentlich verbessert wurde diese Methode durch Chrzonszczewsky, welcher eine mit Silbernitrat versetzte Gelatinelösung benutzte. Die besten Resultate erhält man jedoch, wenn man nach der Vorschrift von Ranvier zunächst eine Silbernitratlösung injicirt und derselben dann eine Gelatinelösung nachschickt. Die Leimlösung noch mit Berlinerblau zu färben, ist überflüssig, weil die Silberlösung die Gefässe genügend kenntlich macht. Statt der gewöhnlichen Silbernitratlösung empfiehlt es sich, die von Hoyer empfohlene ammoniakalische Silberlösung zu benutzen, weil dieselbe nur die Endothelgrenzen allein zum Vorschein bringt und die umgebenden Gewebe ungefärbt lässt, wodurch die Bilder bedeutend an Klarheit und Anschaulichkeit gewinnen.

Chrzonszczewsky.[27]) $^1/_2$ Unze (= 14,62 Grm.) feiner Gelatine wird in 4 Unzen (= 116,93 Grm.) dest. Wassers gelöst und dann eine Lösung von 1 Ser. (= 1,22 Grm.) Silbernitrat in 2 Dr. (= 7,31 Grm.) dest. Wasser zugesetzt. Nach der Injektion müssen sämmtliche injicirten Theile sogleich dem Lichte ausgesetzt werden. Parenchymatöse Organe werden in feine Stücke geschnitten und dann belichtet. Die dunkel gewordenen Präparate kann man

mit Karmin und 1%iger Essigsäure behandeln und nachher in Glycerin einlegen, welches denselben Gehalt der Säure besitzt, oder trocken (in Dammarfirnis) einschliessen.

ROBIN[114]) giebt folgende Vorschrift für Silbergelatine: Gelatine 50 Grm., Wasser 350 Grm. Nachdem die Gelatine verflüssigt ist, werden 100 Grm. einer 1%igen Silbernitratlösung hinzugefügt und das Ganze wird durchgeseiht. Zur Injektion benutzt man Glasspritzen oder Apparate mit konstantem Druck. Nach beendigter Injektion lässt man die Stücke 24 Stunden liegen, ohne sie in irgend eine Flüssigkeit einzulegen, und setzt sie dann erst dem Lichte aus. Sollen die Präparate konservirt werden, so werden sie auf kurze Zeit in eine Lösung von unterschwefligsaurem Natron gelegt und dann in Glycerin, resp. nach Entwässerung mit Alkohol in Kanadabalsam eingeschlossen.

RANVIER[107]) giebt folgende 3 Vorschriften für Injektionen mit Silberlösungen: 1. eine Lösung von Silbernitrat von 1 : 300 oder 1 : 500 Wasser; 2. ein Gemisch von 2, 3 und 4 Theilen einer koncentrirten Leimlösung und 1 Theil einer 1%igen Silbernitratlösung; 3. wird zuerst eine Silbernitratlösung injicirt und dann eine einfache oder mit löslichem Berlinerblau gefärbte Leimsolution.

HOYER[71, 72, 73]) fügt zu einer Silbernitratlösung von bestimmter Koncentration gerade so viel Ammoniaklösung hinzu, dass der ausgefällte Niederschlag sich eben wieder löst. Die Lösung wird dann mit Wasser so weit verdünnt, dass sie einer 0,75—0,50%igen Silbernitratlösung entspricht. Diese Flüssigkeit kann sowohl zur Imprägnation der Gewebe benutzt werden als auch zur Injektion. In letzterem Falle wird der Silberlösung eine koncentrirte Gelatinelösung nachgeschickt. »Die Herstellung der Lösung ist eine so einfache und mühelose, die damit erhaltenen Zeichnungen so tadellos und instruktiv, dass die mit reiner Höllensteinlösung hergestellten Präparate meist keinen Vergleich damit aushalten können.«

Mit Wasser nicht mischbare Massen (Wachs-, Talg-, Harz-, Oel- und Celloidinmassen).

Historisches. SWAMMERDAM[142]) war der erste, der eine Wachsmasse zu Injektionen benutzte. Er bewahrte die Zusammensetzung der Masse längere Zeit als ein Geheimniss, veröffentlichte dasselbe aber schliesslich in der kleinen Schrift: »Miraculum naturae sive uteri muliebris fabrica« im Jahre 1672. Die Einführung der Wachsmasse bedeutete einen grossen Fortschritt in der Injektionstechnik, weil dadurch nicht allein die Erforschung des Gefässsystems wesentlich gefördert wurde, sondern weil dadurch auch die Vorzüge von flüssig injicirten und in den Gefässen erstarrenden Massen erkannt und damit der Weg zur Anwendung von sich ähnlich verhaltenden Massen angegeben war. RUYSCH[119]) lernte die neue Injektionsmethode unmittelbar bei SWAMMERDAM kennen, benutzte jedoch zu seinen berühmt gewordenen Injektionspräparaten hauptsächlich Talgmassen, deren Bereitungsmethode er sammt seiner Präparatensammlung im Jahre 1717 an Peter den Grossen verkaufte. Ausser den Wachs- und Talgmassen wurden von den Anatomen der damaligen Zeit auch Harzmassen benutzt, welche später von LIEBERKÜHN[88]) und schliesslich von HYRTL[76]) in hohem Grade vervollkommnet worden sind. Bei Anwendung aller dieser Massen liegt eine gewisse Unbequemlichkeit darin, dass die zu injicirenden Leichen oder Leichentheile vorgewärmt werden müssen. Um dies zu vermeiden, empfahlen MONRO[97]) und SUE[141]) besonders für feinere Injektionen Terpentin, welches mit einem Farbstoff, wie Zinnober, gefärbt wurde. Eine Masse, welche auch zur Füllung von gröberen Gefässen geeignet und kalt zu injicieren war, stellte SHAW[129]) zusammen. Diese letztere wurde weiterhin von TEICHMANN wesentlich vervollkommnet. Eine gute Uebersicht über die in früheren Zeiten benutzten Massen findet sich bei FISCHER[42]) und HYRTL[76]).

Verwendung der Massen. Sämmtliche oben angeführten Massen sind heutzutage noch im Gebrauch, doch ist ihre Verwendung hauptsächlich auf die makroskopische Anatomie beschränkt. Die Wachsmassen werden zur Füllung der Gefässe und Fettmassen zur Darstellung von Hohlräumen, Sehnenscheiden, Gelenkkapseln u. a. benutzt. Neuerdings empfielt PELLANDA leicht flüssige Fette auch zur Injektion von Gefässen, und zwar der Venen von den Arterien aus. Die Harzmassen kommen in ihrer früheren Form nur noch bei makroskopischen Korrosionsinjektionen zur Verwendung, da-

gegen werden die erst weit später bekannt gewordenen alkoholischen Harzlösungen auch in der mikroskopischen Anatomie sowohl zu Injektions- wie auch Korrosionspräparaten benutzt. Besonders geeignet haben sie sich bei Injektionen von einzelnen Gefässgebieten (Arterien oder Venen allein ohne Kapillaren) und ferner von Augengefässen und niederen Thieren erwiesen. Die mit flüchtigen Oelen bereiteten Massen haben sich fast in unveränderter Form bis jetzt in der Technik erhalten und werden mit besonderem Erfolge in den Fällen benutzt, wo es sich darum handelt, eine möglichst vollkommene Injektion des gesammten Gefässgebietes eines Organs zu erhalten, und ferner bei Injektionen von Lymphgefässen. Die Kittmasse von Teichmann findet nur bei der makroskopischen Darstellung von Blut- und Lymphgefässen Verwendung. Die Celloidinmassen endlich eignen sich weniger zu mikroskopischen Schnittpräparaten als zu Korrosionen, die sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch recht instruktive Bilder liefern.

In Anbetracht der verschiedenartigen Zusammensetzung der in diesem Kapitel behandelten Injektionsmassen ist es nicht möglich, irgend welche allgemeineren Vorschriften über die Bereitung der Vehikel und über die Benutzung von Farbstoffen zu geben. Nur hinsichtlich der Fixirung der injicirten Präparate sei hier erwähnt, dass sich mit Ausnahme der mit alkoholischen Harzlösungen eingespritzten Präparate sämmtliche am besten in Alkohol fixiren lassen. Für Oelmassen ist dies unbedingt nothwendig, damit der Alkohol die flüchtigen Oele extrahirt. Um die mit alkoholischer Schellackmasse injicirten Theile zu härten und schnittfähig zu machen benutzten Hoyer, Virchow, Schuberg Chromsäure, welche mit dem Schellack eine in Alkohol unlösliche Verbindung eingeht.

Wachsmassen. Swammerdam [142]) beschreibt die Herstellungsmethode seiner Masse folgendermassen: »Recipe cerae albae quantum videbitur, eamque liquefactam rubro, flavo, viridi, vel quo alio colore, qui vel magis arridet, vel rei convenientissimus est, tinge, et siphone, qui cochlea adstrictum tubulum habeat, prosperanter excipe et . . . . . . injice.«

Stalpart van der Wiel (1687) [133]) injicirte lediglich mit flüssig gemachtem Wachs.

Strauss-Durckheim [138]) benutzt: 100 Grm. weisses Wachs, 100 Grm. Hammeltalg, 50 Grm. venetianisches Terpentin. Man verflüssigt die Substanzen in der Wärme in der angegebenen Reihenfolge, erhitzt dieselben 1—2 Stunden über einem gelinden Feuer, setzt den Farbstoff zu und seiht sie alsdann durch.

Fettmassen. Ruysch [119]) injicirte mit Talg, dem er im Sommer etwas Wachs hinzufügte. Zur Färbung diente Zinnober.

Strauss Durckheim [138]) empfiehlt für gröbere Injektionen folgende eigenthümliche kaltflüssige Fettmasse, welche er Elaïdinmasse nennt: Zu 100 Theilen Olivenöl giebt man eine Mischung von 9 Theilen Salpetersäure von 38° und 3 Theile Salpetersäureanhydrat (Acide nitrique anhydre). Diese Mischung wird stark durchgeschüttelt und ein Farbstoff hinzugethan, welcher von der Salpetersäure nicht angegriffen wird. Hierauf injicirt man die Masse. Ist das Olivenöl rein, so wird die Masse in 70 Minuten fest, enthält dieselbe aber nur $^1/_{100}$ Mohnöl, so wird das Festwerden um $^3/_4$ Stunden verzögert. Nimmt man weniger Säure, so erstarrt die Masse erst nach 10 Stunden. Man kann zu der Masse auch andere Oele, wie das Oel aus süssen Mandeln, bitteren Mandeln und Nussöl benutzen, doch erstarrt die Masse langsamer.

Robin [114]) bereitet eine fette Masse aus 40 Grm. Fett, 10 Grm. Walrath, 10 Grm. weissem Wachs, 15 Grm. Terpentin und einem Farbstoff.

Pellanda [104]) empfiehlt zur Injektion von Venen von den Arterien aus das zwischen 30 und 40° schmelzbare Palm- und Kokosnussöl, welche eventuell mit transparenten Farbstoffen, wie Oréanette, Curcuma oder fettfärbenden Anilinfarbstoffen (Violett B S, Blau V S, Anisolin 3 B) gefärbt werden.

Harzmassen. Hales [61]) nimmt je 3 Unzen weisses Harz und Talg und färbt diese Mischung mit wohl pulverisirtem Zinnober oder Indisch, welches zuvor mit 8 Unzen Terpentin verrieben war.

Lieberkühn. [88]) L.'s Masse bestand aus Wachs, Kolophonium mit einem geringen Zusatz von Terpentinöl und Zinnober als Farbstoff. Zur Injektion der feineren Gefässe wurde die Masse mit Terpentin verdünnt, doch meint Hyrtl, dass auch wohl zugleich mehr Zinnober hinzugefügt werden musste, da Lieberkühn sonst keine so schönen und gleichförmigen Injektionen erreicht hätte.

Barth's und Prohaska's [4]) Massen bestanden nach Hyrtl's Angabe aus Wachs, Mastixfirnis, einer geringen Menge eines fetten Oeles und einer grossen Quantität Zinnober.

Berres[11]) benutzte zu seiner Injektionsmasse reinen, weingeisthaltigen Kopallackfirnis, dem $^1/_6$ des Gewichtes reines, mit etwas Terpentin im Sandbade aufgelöstes Mastix zugesetzt wird. Ein auf eine Steinplatte fallen gelassener Tropfen der Masse soll honigartig fadenziehend sein. Zuletzt wird Zinnober zugefügt. Vor einer Beimischung von venetianischem Terpentin, Wachs oder Fett warnt B., weil durch diese Substanzen der Zusammenhang der Masse geringer wird. Für gewisse Gefässbezirke empfiehlt B. eine Kombination der Harzmasse mit einer Masse aus Gummi arabicum, Hausenblase oder Leim. Zuerst wird die Harzmasse und darauf die Gummimasse in die Spritze eingesogen, dann werden beide zugleich injicirt. Eine derartige Injektion ist meist vollkommener als eine solche mit Harzmasse allein.

Hyrtl[76]) benutzt zu seinen Injektionen eine Masse von folgender Zusammensetzung: Die im reinen Zustande käuflichen Malerfirnisse (Kopal- und Mastixfirnis) werden bis zur Syrupdicke abgedampft und mit ungefähr dem achten Theile Zinnober versetzt, welcher zuvor mit demselben Firnis auf einem Reibsteine gut verrieben wurde. Ein geringer Zusatz von Jungfernwachs giebt dieser Masse mehr Körper. Da die Masse erst nach mehreren Wochen beim Trocknen an der Luft fest wird, so setzt H. zur Beschleunigung des Erhärtens dem Zinnober noch ein halbes Gewicht Mennige hinzu, welche mit Oliven- oder Mohnöl sehr fein verrieben sein muss. Frey lobt die Masse.

Zu kalten Injektionen bedient sich H. der gleichen Masse, doch wird dieselbe in einer Serpentinschale unter allmählichem Zusatz von Schwefeläther zur Syrupdicke verrieben, derselben noch Zinnober im Verhältniss von 1 : 8 zugesetzt und das Ganze neuerdings mit Schwefeläther verrieben, bis die Masse vollkommen flüssig ist. In diesem Zustande wird die Masse schnell injicirt.

Alkoholische Harzlösungen. Nach Strauss-Durckheim[138]) bediente man sich in früheren Zeiten einer alkoholischen Lösung von Siegellack (cire d'Espagne) zu Injektionen, doch könne er diese Masse nicht empfehlen, da dieselbe die Instrumente stark verunreinige, sich überdies die Harze in Alkohol nicht gut lösen und das Zinnober sich absetzt. Robin empfiehlt dagegen diese Masse.

Suquet[140]) löst Harz in Alkohol und färbt mit Lampenschwarz.

Hoyer[71]) findet alkoholische Schellacklösungen zur Erforschung der unmittelbaren Uebergänge der Arterien in die Venen vorzüglich geeignet, weil die Masse von den Arterien aus injicirt die Kapillaren nicht passirt, sondern nur bei eventuell vorhandenen Uebergängen in die Venen eindringt. Die Masse eignet sich auch zu Korrosionspräparaten. Ihre Herstellung ist folgende: Eine Quantität von gutem Schellack wird in einer weithalsigen Flasche mit dünnem Boden mit so viel starkem Alkohol (von cirka 80%) übergossen, dass ersterer von letzterem gerade bedeckt wird. Nach 24 Stunden wird die Flasche im Wasserbade erwärmt, um den Rest des ungelöst gebliebenen Schellacks zur Lösung zu bringen. Alsdann wird die Lösung nach völliger Abkühlung, wenn nöthig, mit Alkohol bis zur Konsistenz eines dünnflüssigen Syrups versetzt und durch ein Stückchen von mässig dichtem Mousselin durchgeseiht. Letztere Procedur ist unumgänglich nothwendig. Die entsprechende Färbung erhält die Masse entweder durch Beimengung einer koncentrirten und filtrirten alkoholischen Lösung von Anilinblau, Anilinroth, Anilinviolett oder einer Suspension von feinen körnigen Farbstoffen in Alkohol. Die Anilinfarben werden mit der Zeit unansehnlich, daher eignen sich für die Herstellung von länger aufzubewahrenden Präparaten die körnigen Farbstoffe besser. Die schönste und intensivste Färbung liefert Zinnober. Zu Korrosionspräparaten eignen sich ferner Schwefelarsen (Auripigment) und Berlinerblau. Eine Mischung beider giebt Grün. Für gelbe Farbe lässt sich auch frisch gefälltes Schwefelkadmium verwenden. Die mit Wasser fein verriebenen Farbstoffe übergiesst man in Fläschchen mit Alkohol, lässt absetzen, giesst den durch das Wasser verdünnten Alkohol ab und setzt dafür starken Alkohol zu. Beim Umschütteln der Flaschen bildet sich durch eine Art von Schlemmungsprocess ein Absatz von gröberen Körnchen, während der fein vertheilte Farbstoff länger suspendirt bleibt und nun der Schellackmasse in solcher Quantität zugesetzt wird, dass dieselbe eine intensive gesättigte Färbung zeigt. Nach Zusatz der körnigen Farbstoffe wird die Masse zweckmässig noch einmal durch Mousselin geseiht. — Zur Injektion von feinen Gefässverzweigungen bedient sich H. einer mit Alkohol stärker verdünnten Schellackmasse, welche er mittels eines die Verdampfung des Alkohols verhindernden Trichters durch Filtrirpapier filtrirt. Hierauf wird ein Theil des Alkohols bis zur entsprechenden Koncentration der Masse wieder abdestillirt. Zur Färbung dienen die in Zinnkapseln käuflichen Wasserfarben der Maler, welche behufs Beseitigung des Bindemittels mit Wasser ausgewaschen und dann in Alkohol suspendirt werden. Um die Brüchigkeit der Masse für Korrosionspräparate zu verringern, ist ein Zusatz einer alkoholischen Lösung von venetianischem Terpentin ganz zweckdienlich.

Von H. Virchow[155]) ist die Masse von Hoyer zur Injektion der Augengefässe mit gutem Erfolg benutzt worden.

Bellarminow[9]) zieht die gleiche Masse zur Injektion der Augengefässe allen anderen vor. Zur Färbung wird Zinnober oder Berlinerblau benutzt. Die Fixirung der Präparate geschieht in 2—3 pro Mille Chromsäure.

Zuckerkandl[165]) benutzte die Hoyer'sche Masse zur Injektion der Blutgefässe der Nasenhöhle und des Thränennasenganges.

Schuberg[127]) empfiehlt die Hoyer'sche Schellackmasse zur makroskopischen Injektion der Blutgefässe von niederen Wirbelthieren. Um das Aufbewahren der Thiere in Alkohol

zu ermöglichen, werden dieselben in $^1/_2$—1%iger Chromsäurelösung fixirt, welche mit Schellack eine in Alkohol unlösliche Verbindung bildet.

Kittmassen. SHAW[129]) empfiehlt für gröbere Injektionen eine Masse aus rother Mennige, gekochtem Leinöl von dicker Konsistenz und venetianischem Terpentin.

E. H. WEBER[159]) hat die Masse von SHAW modificirt, so dass dieselbe auch für mikroskopische Injektionen tauglich wurde. Auf 7 Theile Leinöl nimmt er 5 Theile venetianischen Terpentins. Zur Färbung der Masse verwendet er Mennige oder Bleiweiss, von welchen ein Gewichtstheil mit einem Gewichtstheil Masse vermischt wird.

TEICHMANN[147]) hat diese Massen noch mehr vervollkommnet. Seine rothe Masse besteht aus 5 Grm. geschlemmter Kreide und 1 Grm. gewöhnlichen Zinnobers. Dieselben werden durchgemischt und durchgesiebt und mit 0,9—1,0 Ccm. durch Kochen eingedickten Leinöls so lange durchgeknetet, bis man eine dem Glaserkitt ähnliche Masse erhält. Vor der Injektion wird der Kitt mit etwa 0,75 Ccm. Schwefelkohlenstoff verdünnt und in die Spritze eingefüllt. Hat die Masse, wie z. B. bei der Injektion von ganzen Leichen, grosse Strecken zu durchlaufen, so muss man zunächst eine dünnflüssige Masse injiciren und dann eine dickflüssigere nachschicken. Das Verhältniss beider Massen ist folgendes:

	leichtflüssige Masse	dickflüssige Masse
Geschlemmte Kreide	5 Grm.	5 Grm.
Zinnober	1 Grm.	1 Grm.
Leinöl	1,2 Ccm.	1 Ccm.
Schwefelkohlenstoff	1,5—2,0 Ccm.	0,5 Ccm.

Die blaue Masse für Veneninjektion besteht aus 15 Grm. Zinkweiss, 1 Grm. Ultramarin, 2—2,5 Ccm. Leinöl, 1 Ccm. Schwefelkohlenstoff oder Schwefeläther; die weisse Masse aus 20 Grm. Zinkweiss, 3 Ccm. Leinöl, 2 Ccm. Schwefeläther. — Anders gefärbte Massen erhält man durch Mischung von entsprechenden Farben mit den Hauptbestandtheilen, Kreide oder Zinkweiss und Leinöl. — Die Massen lassen sich lange Zeit unter Wasser aufheben. Den bei einer Injektion übrig bleibenden Ueberschuss kann man abdampfen und unter Wasser aufheben.

Eine ausführliche Beschreibung der Darstellung der TEICHMANN'schen Masse hat allerdings lediglich für makroskopische Zwecke KOLLMANN[81]) gegeben.

Oelmassen. MONRO[97]) benutzte zu seinen Injektionen in Terpentin suspendirte Farbstoffe, wie Mennige, Zinnober und gereinigten Grünspan. Die grösseren Gefässe füllte er dann mit gröberen, dickflüssigen Massen nach. Auf 1 Pfund (= 24 Loth) Terpentin kommen 6 Loth Zinnober oder Grünspan. Die Farbstoffe werden zuvor fein gepulvert, dann mit Terpentin gemischt. durchgeseiht oder auch nur dekantirt.

SUE[141]) nimmt auf 1 Pfund Terpentin 2—3 Unzen Zinnober nnd seiht die Masse mehrmals durch. Von anderen Farben benutzt er Grünspan, Kobaltblau (cendre bleu), Berlinerblau, Indigo.

SHAW[129]) empfiehlt als eine sehr weit eindringende Masse ein Gemenge von Terpentin und Bleiweiss. Dieser Injektionsmasse kann man jede beliebige Färbung geben, wenn man das Terpentin zunächst mit dem betreffenden Farbstoff versetzt und dann das Bleiweiss hinzufügt. Der Farbstoff muss in ziemlich grosser Quantität zugesetzt werden, damit er die weisse Farbe des Bleiweisses verdeckt.

LAUTH[84]) empfiehlt für feine Einspritzungen reines Terpentin oder eine Mischung von 8 Theilen Weingeistfirnis, 1 Theil Terpentinfirnis und 1 Theil Farbstoff (Zinnober, Königsgelb, Bleiweiss, Lampenschwarz, Indigo, Berlinerblau).

STRAUSS-DURCKHEIM[138]) benutzt zu Injektionen der Gefässe (bei Mollusken) Spermacet 25 Theile, venetianisches Terpentin 10 Theile, Lavendel- oder Terpentinöl 10 Theile. Als Farbstoffe dienen Zinnober, Karmin, Krapp, Orcanète, Berlinerblau, Lampenschwarz, Chromgelb. Die Masse schmilzt bereits bei 36°. Zur Injektion von sehr feinen Gefässen dienen als Vehikel Lavendelöl oder Terpentin, welche mit Orcanète gefärbt werden. Man lässt das Färbekraut längere Zeit in den Oelen maceriren, wobei letztere allmählich die Farbe aufnehmen, doch wird dieselbe durch saure Fixationsmittel leicht verändert.

HIRSCHFELD[65]) benutzte nach den Angaben von ROBIN zur Injektion von Kapillaren Oel, welches mit einem trockenen Farbstoff verrieben wurde, alsdann wurde etwas venetianisches Terpentin hinzugefügt. Die Masse dringt zwar gut ein, bleibt aber lange flüssig.

HARTING[63]) zieht fein zerstossene Alkannawurzel mit Terpentinöl aus und dickt dieselbe dann auf dem Sandbade ein. Er benutzt diese Masse zur Injektion von lufthaltigen Räumen (siehe Injektion von Drüsengängen). In gleicher Weise verfahren BRÜCKE und WALDEYER.

ROBIN[114]) benutzt Firnisse und flüchtige Oele (Terpentin), denen er der besseren Konsistenz wegen etwas Wachs hinzufügt. Zur Färbung dienen die Oelfarben der Maler in bester Qualität. Die empfehlenswerthesten sind Zinnober, Berlinerblau, Chromgelb, Silberweiss (blanc d'argent). Da das Berlinerblau für reflektirtes Licht zu dunkel ist, mischt man es mit Weiss im Verhältniss von 1 : 5. R. füllt mit blauer Masse die Arterien, mit gelber die Venen. Die Mischung beider im Kapillargebiet giebt ein schönes Grün, wogegen aus dem üblichen Roth und Blau eine hässliche Mischfarbe entsteht. Die mit gefärbten Firnissen bereiteten Massen bleiben lange flüssig und verunreinigen stark die Instrumente.

Hoyer[74]) hat bei seinen Milzuntersuchungen unter anderem eine Oelmasse von folgender Zusammensetzung benutzt: 5 Grm. Oelfarbe (das in Zinntuben käufliche Berlinerblau oder Chromgelb der Maler) werden mit 5 Grm. eingediekten Leinöls in einer Reibschale gut verrieben und derselben dann cirka 30 Grm. eines ätherischen Oels (Lavendel-, Fenchel-, Thymian- oder Rosmarinöl) zugesetzt, bis eine gleichmässige syrupöse Flüssigkeit hergestellt ist. Dieselbe wird in eine gut schliessbare Flasche eingefüllt, durch 12—24 Stunden stehen gelassen, alsdann von dem am Boden zurückbleibenden Rückstande abgegossen und zur Injektion benutzt. Die dekantirte Flüssigkeit kann unbegrenzt lange vorräthig gehalten werden, muss aber dann vor dem jedesmaligen Gebrauch durchgeschüttelt werden, weil sich ein Theil des Farbstoffes doch zu Boden senkt. Nach der Injektion müssen die Gefässe unterbunden werden, weil die Masse sonst ausfliesst. Die Fixirung der Präparate geschieht in starkem Alkohol. Derselbe zieht die Oele aus und der Farbstoff schlägt sich an den Gefässwänden nieder. Der Farbstoff ist derartig fein vertheilt und bedeckt die Wände in so dünner Schicht, dass die Transparenz der Präparate durch denselben nicht beeinträchtigt wird.

In ganz ähnlicher Weise bereitete Oelmassen werden in neuerer Zeit fast ausschliesslich zur Injektion von Lymphgefässen benutzt (siehe diese, Gerota).

Asphaltmassen. Eine gesonderte Gruppe bilden wegen der Art des Farbstoffes und der Lösungsmittel die Asphaltmassen. Dieselben sind zu Blutgefässinjektionen weniger verwendet worden als zur Injektion von Drüsengängen und Lymphgefässen und sollen daher auch dort eingehender behandelt werden.

Rindfleisch[113]) benutzte den gewöhnlichen käuflichen Asphaltlack als solchen zu Gefässinjektionen. Die injicirten Organe lassen sich in Alkohol schnell und gut erhärten, dürfen aber nicht in Kanadabalsam eingeschlossen werden.

In dem Ludwig'schen Laboratorium wurde das in Aether, Chloroform oder Benzol gelöste Asphalt vielfach zur Injektion von Gallengängen und Lymphgefässen in Anwendung gezogen. Für letztere empfiehlt Rutherford[118]) das in Chloroform gelöste Asphalt.

Celloidinmassen. Robin und Legros[114]) benutzten Kollodium als Vehikel für Injektionsmassen und bereiteten dieselben in folgender Weise: 5 Grm. Schiessbaumwolle werden in einer Mischung von 200 Grm. Schwefeläther und 20 Tropfen Alkohol gelöst. Hierzu fügt man 0,10 Grm. eines Anilinfarbstoffes. Der rothe (chlorhydrate de rosanilin = Fuchsin) muss zuvor in einigen Tropfen reinen Alkohols gelöst werden, der blaue (chlorhydrate de rosanilin triphénilique = Anilinblau) und der violette (chlorhydrate de rosalin triéthylique = Hofmann's Violett) können dem Kollodium unmittelbar zugefügt werden. Die mit dieser Masse injicirten Präparate werden in Glycerin konservirt, blassen darin allerdings bald ab. Ranvier[107]) hat diese Injektionsmasse versucht, findet dieselbe aber völlig unbrauchbar. Die Farbstoffe diffundiren in die Gewebe, und wenn man behufs Härtung der Präparate Alkohol verwendet, so werden die Farbstoffe gänzlich gelöst und ihr Diffundirungsvermögen hiermit noch gesteigert.

Korrosionsmassen.

In der anatomischen und histologischen Technik kommen neben den gewöhnlichen Injektionen noch häufig sogenannte Korrosionsinjektionen zur Verwendung. Dieselben beruhen darauf, dass Gefässe, Drüsengänge oder sonstige Hohlräume mit erstarrenden Massen gefüllt und darauf sämmtliche dieselben umgebenden Gewebe durch Maceration, starke Alkalien oder Säuren korrodirt, d. h. vernichtet oder auch durch künstliche Verdauung aufgelöst werden. Es bleibt lediglich der aus der Injektionsmasse bestehende plastische Ausguss des Lumens des betreffenden Kanalsystems zurück, welcher makroskopisch oder mikroskopisch, am besten bei auffallendem Lichte betrachtet wird. Altmann, der eine eigene Korrosionsmethode speciell für histologische Untersuchungen eingeführt hat, giebt folgende präcise, aber nicht leicht fassliche Definition des Korrosionsverfahrens. Nach ihm beruht die Korrosion darauf, »dass man eine Substanz, die sich durch ihre Widerstandsfähigkeit gegen eine zweite zerstörende Substanz auszeichnet, in das Gewebe hineinbringt, dann dass Gewebe vermittels dieser zweiten Substanz zerstört und aus den zurückbleibenden Formen der ersten widerstandsfähigen Substanz seine Schlüsse zieht«. Obwohl die Korrosionsinjektionen nicht in allen Fällen anwendbar sind, weil die meisten Massen in das Gebiet der Kapillaren nur schwer eindringen, so ergänzen sie doch die mittels der einfachen Injektionsmethoden erhaltenen Bilder in ausgezeichneter Weise, indem dieselben die Anordnung und Form der Gefässe vortrefflich veranschaulichen. An der Hand von Korrosionspräparaten übersieht

man die Vertheilung der Gefässe eines Organs weit leichter und schneller, als dies an Schnitten von Injektionspräparaten möglich ist, es sei denn, dass man sich dieselben durch die mühsame Plattenmodellirmethode rekonstruirt.

Vehikel für Korrosionsmassen. Die Vehikel, deren man sich zu Korrosionsinjektionen bedient, sind sehr verschiedener Art: leicht flüssige Metalle, Harze, Celloidin und Celluloid und schliesslich osmirte Oele. Am frühesten wurden zu Korrosionen Metalle angewandt, und zwar füllte nach Hyrtl's Angabe zuerst Bidloo (1675) die Lungen mit geschmolzenem Wismut und Cowper (1697) mit Blei. Homberg [69]) benutzte zu dem gleichen Zwecke zum erstenmale eine Mischung von Blei, Zinn und Wismut. Es ist dies bereits eine dem Rose'schen Metall ähnliche Legierung (Rose: 2 Theile Wismut, 1 Blei, 1 Zinn], Schmelzpunkt 94° C; Wood: 4 Theile Wismut, 1 Kadmium, 1 Zinn, 2 Blei, Schmelzpunkt 65° C). Mittels der Metalllegirungen lassen sich jedoch nur grössere Hohlräume, grössere Kanäle und Gefässe ausfüllen (bei Füllung der Lungen dringen dieselben allenfalls noch bis in die Alveolen), zu mikroskopischen Untersuchungen sind dieselben ungeeignet. Genauere Angaben über die Metallkorrosionen finden sich bei Hyrtl [76]) und Wickersheimer.[162])

Nach den Angaben von Strauss-Durckheim [138]) hat Nichols (1733) als erster* Harzmassen zu Korrosionen benutzt. Dieselben sind später von Hunter modificirt und verbessert worden. Die Harzmassen bestehen entweder aus einer Mischung von verschiedenen Harzen und Wachs oder aus Harzen, die in Alkohol gelöst sind. Erstere werden in der Wärme zusammengeschmolzen und werden warm injicirt. Letztere bilden dickflüssige Lösungen, welche kalt injicirt werden. Als ein wesentlicher Vorzug dieser Massen ist anzuführen, dass dieselben die injicirten Räume sehr vollkommen ausfüllen und bei ihrer Erstarrung nicht wesentlich zusammenschrumpfen. Sehr nachtheilig ist die Sprödigkeit der Massen, welche sich bei der Nachbehandlung von zarteren Präparaten, besonders bei ihrer Reinigung empfindlich geltend macht. Die Harzkorrosionen werden trocken aufbewahrt.

Das Celloidin oder vielmehr das Kollodium wurde sowohl zu gewöhnlichen als auch zu Korrosionsinjektionen zuerst von Robin eingeführt. Eine allgemeinere Verbreitung erlangte diese Methode erst nach der Publikation Schiefferdecker im Jahre 1882. Die Celloidinmassen haben vor den Harzmassen den Vorzug, dass dieselben bei weitem nicht so brüchig sind wie letztere, dagegen stärker zusammenschrumpfen. Die Aufbewahrung geschieht, wenn es sich um makroskopische Präparate handelt, am besten in schwachem Alkohol, wenn um mikroskopische, in Glycerin oder in Glyceringelatine. Trocken lassen sich die Präparate nicht aufheben, weil dieselben zur Unkenntlichkeit einschrumpfen. Celluloidpräparate werden dagegen ohne Schaden trocken aufbewahrt.

Farbstoffe. Zum Färben der Massen müssen Farbstoffe gewählt werden, welche von den Korrosionsflüssigkeiten nicht angegriffen werden. Eine universale Verwendung gestattet Zinnober und das in Wasser aufgelöste Berlinerblau, Kobaltblau und Porzellanerde. Harzmassen lassen sich auch mit anderen Farbstoffen färben, die den Korrosionsflüssigkeiten sonst nicht widerstehen, weil letztere die Harzmasse nicht durchdringen; als solche wären zu nennen Kremserweiss (Bleiweiss), Chromgelb, Neapler Gelb und verschiedene Anilinfarbstoffe. Schiefferdecker empfiehlt für Celloidinmassen Asphalt und Vesuvian zur Färbung.

---

* Haller (II, pag. 233) sagt von ihm: »nitidis injectionibus celebris« und »Inventorem esse praeparationis viscerum, quae fit per erosionem.«

Korrosionsverfahren. Nachdem die Organe injicirt sind, können sie meist sogleich der Korrosion unterzogen werden. Die mit Metalllegierungen gefüllten Organe werden in starken Laugen oder auch durch Maceration in Wasser korrodirt. Für Celloidin- und Harzinjektionen benutzt man meistens Salzsäure, welche man in koncentrirtem Zustande nur kurze Zeit, 3—5 Tage, oder verdünnt mehrere Wochen einwirken lässt. Einige Autoren wenden zu dem gleichen Zwecke die künstliche Verdauung mittels Pepsin und Salzsäure an. Für zarte Objekte und mikroskopische Korrosionen wird Eau de Javelle empfohlen.

Nach genügender Einwirkung der Korrosionsflüssigkeiten werden die Präparate aus denselben vorsichtig in Wasser übertragen und in diesem am besten 24 Stunden ruhig liegen gelassen. Das Wasser in dieser Zeit ein- bis zweimal zu erneuern, ist vortheilhaft. weil dann die Weichtheile meist schon von selbst abfallen und eine nur geringe Nachhilfe mittelst eines schwachen Wasserstrahls genügt, um das Präparat völlig freizulegen und zu reinigen.

Harzmassen. Hunter[75]) benutzte nach der Angabe von Strauss-Durckheim folgende Mischung zu Korrosionsinjektionen: 8 Unzen reines Harz, 10 Unzen weisses Wachs, 12 Unzen venetianisches Terpentin.

Sue[141]) verwandte die gleichen Substanzen in folgenden Verhältnissen: 10 Unzen gereinigtes Harz, 12 weisses Wachs, 6—8 Terpentin.

Lieberkühn[88]) hat mit seiner pag. 595 beschriebenen Masse die Gefässe injicirt und das Parenchym mittels Scheidewasser oder verdünnter Schwefelsäure zerstört.

Bogros[15]) bereitete seine Korrosionsmasse in der Weise, dass er 1 Theil venetianisches Terpentin mit 3 Theilen Wasser 4—5 Stunden kochte, das Gemenge alsdann in kaltes Wasser goss und sorgfältig durchknetete. Hierauf wurde das Terpentin wieder geschmolzen und so lange gekocht, bis alles Wasser verdampft war. Zu 8 Unzen des gekochten Terpentins fügte er 2 Unzen weisses oder gelbes Wachs und 3 Unzen Zinnober oder 1 Unze mit Oel angeriebenen Berlinerblaus. Vor dem Gebrauch wird die Masse durchgeseiht.

Lauth.[84]) Statt der Masse von Bogros, deren Bereitung langwierig ist, nimmt L. 3 Theile weisses Geigenharz, 1 Theil weisses Wachs, 1 Theil Strassburger Terpentin und $^1/_3$—$^1/_2$ Theil Walrath.

Strauss-Durckheim[138]) nimmt 3 Theile weisses Wachs, 2 Theile venetianisches Terpentin, 1 Theil Burgogner Terpentin (weisses Pech). Die Masse dringt in die feinsten Gefässe ein, ist biegsam und widersteht dem Fäulnissprocess. Nimmt man gleiche Theile von den angeführten Substanzen, so erhält man eine festere, jedoch weniger gut eindringende Masse. Zur Färbung benutzt man am besten Grünspan.

Hyrtl[76]) sagt: »Als allgemein giltige Regel mag es hingenommen werden, den Korrosionsmassen nur sehr wenig Wachs zuzusetzen und sie überwiegend aus abgedampften Firnissen und Harzen bestehen zu lassen. Nie dürfen sie Fett enthalten! Ich verstehe nicht, wie Lauth Walrath empfehlen konnte. Jede fetthaltige oder zu viel Wachs enthaltende Korrosionsmasse zerfällt schon während der Korrosion in Stücke.« H. verwandte die pag. 596 angegebene Masse zu Korrosionsinjektionen. Die Präparate wurden alsdann für 2—3 Wochen in Salzsäure gelegt, welche mit $^1/_6$ Wasser verdünnt wurde. Nach der Korrosion wurden dieselben mit reinem Wasser gut ausgewaschen und getrocknet. Um die Zerbrechlichkeit solcher Präparate zu vermindern, taucht H. dieselben wiederholt in eine Hausenblasenlösung und überstreicht die Hauptstämme noch besonders mit Hausenblasenlösung zur Festigung. Die beim Eintauchen in die Leimlösung zwischen nahe stehenden Zweigen entstehenden Häutchen von Leim müssen durch Anblasen mit einem Röhrchen zum Platzen gebracht werden.

Zondek[164]) hat das arterielle Gefässsystem der Nieren an Korrosionpräparaten untersucht. Er bediente sich dabei der Hyrtl'schen Mastixmasse, welche er mittels der Teichmann'schen Spritze injicirte. Die Präparate werden in 60%iger Salzsäure 5—7 Tage korrodirt.

Rejsek.[110]) Man schmilzt 100 Grm. weisses Wachs und 50 Grm. Kanadabalsam und fügt hierzu 50 Grm. Mastixfirnis. Letzteren bereitet man in der Weise, dass man so viel Mastix in Alkohol löst, also sich lösen kann. Alsdann erwärmt man die Lösung über dem Wasserbade, bis dieselbe Syrupkonsistenz erlangt. Zur Färbung der Masse benutzt man die Oelfarben der Maler, wie Zinnober, Berlinerblau, Preussischblau und Kobaltblau. Abstufungen von hellerem und dunklerem Blau erhält man durch einen entsprechenden Zusatz von Kremser Weiss. Zu gelben Massen verwendet man Neapler Gelb. Will man die feinsten Gefässe injiciren, so nimmt man mehr Kanadabalsam und Mastix und weniger Wachs, oder man fügt der oben beschriebenen Masse Terpentinöl hinzu. Die Masse sowie die Spritze müssen vor der Injektion erwärmt werden. Die Injektion muss schnell erfolgen. Die Korrosion geschieht in koncentrirter Salzsäure, der man ungefähr $^1/_8$—$^1/_4$ Wasser hinzufügt.

Hoyer[7]) empfiehlt seine alkoholische Schellacklösung auch zu Korrosionen. Die Anfertigung der Masse ist bereits oben pag. 596 beschrieben; hier sei nur noch das auf die Korrosions-

präparate Bezügliche hervorgehoben. Zu feineren Korrosionen eignet sich die nach der obigen Vorschrift hergestellte Masse am besten, zu gröberen muss die Masse dickflüssiger bereitet werden, so dass dieselbe erst bei leichter Erwärmung flüssig wird. Zur Verringerung der Brüchigkeit werden der Schellackmasse 5% einer gleich konsistenten Lösung von venetianischem Terpentin in Alkohol zugefügt. Zur Zerstörung der Weichtheile nimmt man koncentrirte Salzsäure, in welcher kleinere Präparate höchstens einen Tag, grössere ein bis mehrere Wochen verbleiben. Zweckmässig erweisen sich hierbei kleine Porzellansiebe, auf welche die Präparate gelegt werden. Mittels derselben lassen sich die zarten Präparate leicht aus der Säure herausnehmen und in Wasser übertragen, ohne wesentlichen Schaden zu leiden. Im Wasser bleiben die Präparate zunächst einige Zeit liegen, bevor man sie abspült, dann reinigt man sie, indem das Porzellansieb im Wasser vorsichtig gehoben und gesenkt wird. Ihre definitive Reinigung erfolgt mittels der Spritzflasche. Die feineren Korrosionen lassen sich in erwärmtem Dammarlack zwischen Gläsern einschliessen.

Bellarminow[9]) hat die Hoyer'sche Masse zu Korrosionen von Augengefässen benutzt, welche in Eau de Javelle korrodirt wurden.

Zuckerkandl[165]) stellte mit der Hoyer'schen Masse Korrosionen der Gefässe der Nasenschleimhaut her.

Celloidinmassen. Robin's[114]) Kollodiummasse ist bereits oben pag. 598 beschrieben worden. R. hebt noch ausdrücklich hervor, dass er mittels dieser Masse sehr schöne mikroskopische Korrosionen erhalten habe. Die Diffusion der Farbstoffe in die Gewebe hinein war nicht störend, weil die Weichtheile durch Maceration in Wasser vernichtet wurden.

Schiefferdecker[125]) führte das Celloidin in die Korrosionstechnik ein. Zur Färbung der Masse empfiehlt S. Asphalt. Man pulverisirt letzteres und übergiesst es in einem gut geschlossenen Glase mit Aether. Nach 24 Stunden, während welcher Zeit man die Masse hin und wieder umschüttelt, ist der Aether braun gefärbt. Man giesst ihn in ein anderes Glas ab und löst darin zerkleinertes Celloidin, bis die Lösung etwa wie ein schwerflüssiges fettes Oel fliesst. Das Asphaltpulver kann man lange Zeit hindurch immer wieder zum Färben neuer Aetherportionen verwenden, da es sich nur wenig löst. Auch mit Vesuvian kann man eine gute braune Lösung darstellen. Man stellt zu diesem Zwecke eine koncentrirte Lösung von Vesuvian in absolutem Alkohol dar und löst darin Celloidin. Doch ist dieser Farbstoff weniger haltbar als Asphalt. Will man undurchsichtig roth oder blau färben, so stellt man sich eine Lösung von Celloidin in Alkohol und Aether aa. her und fügt pulverisirtes Zinnober oder Berlinerblau hinzu. Beide werden in einer Reibschale mit absolutem Alkohol zu einem dicken Brei angerührt und dann der Celloidinlösung zugesetzt. Man muss hierbei so wenig Farbstoff nehmen als irgend möglich, da die Masse sonst brüchig wird. Die so hergestellten Massen verwendet man entweder so, wie sie sind, oder presst sie durch ein mit Aether angefeuchtetes Flanelltuch, um etwaige Brocken zu entfernen. Die Injektionsspritzen müssen gänzlich fettfrei sein, da Fett die Injektionsmasse brüchig macht. Sollte der Lederkolben der Spritze ohne Fett nicht schliessen, so bindet man etwas Gaze herum. Die Kanülen werden vor dem Einbinden mit Aether gefüllt und kurz vor dem Einsetzen der Spritze noch nachgefüllt. Die Injektion macht man ziemlich schnell. Nach der Injektion werden die Spritze und Kanüle mit Aether gereinigt. Das injicirte Organ wird in ungereinigte und verdünnte Salzsäure gelegt, wo es so lange bleibt, bis das Gewebe zerstört ist und sich leicht abspülen lässt. Sodann spült man es unter dem konstanten Strahl einer Wasserleitung ab. Der Strahl kann dick sein, darf aber keine grosse Schnelligkeit besitzen. Sind die Präparate abgespült, so lässt man sie am besten noch einige Wochen in Wasser liegen und spült ab und zu nach, bis dieselben ganz rein sind. Alsdann wird das Präparat entweder in Glycerin oder in einer Mischung von Glycerin, Alkohol, Wasser zu gleichen Volumentheilen aufbewahrt. Der Vortheil dieser Masse besteht in ihrer leichten Anwendbarkeit und Zähigkeit, allerdings schrumpft sie ein wenig.

Hochstetter.[67]) Da die Schiefferdecker'sche Masse bei zu geringem Zusatz von Farbstoff zu stark schrumpft, andrerseits nach grösserem Zusatz brüchig wird, hat H., um diesem Uebelstande abzuhelfen, dem Celloidin Kaolin zugefügt. Die Masse wird in der Weise hergestellt, dass die Porzellanerde mit reinem Aether entweder allein, wenn man eine weisse Masse erhalten will, oder mit Kobaltblau, Chromgelb oder Zinnober, welcher aber immer die Masse etwas brüchiger macht, zu einem möglichst feinen Brei verrieben wird, welchen man dann sorgfältig einer vorher bereiteten Celloidinlösung von Honigkonsistenz beimischt. Die Menge der Porzellanerde richtet sich nach dem Kaliber des zu füllenden Gefässes (je stärker das Gefäss, desto mehr Porzellanerde). Zur Injektion verwendet H. eine Teichmann'sche Spritze. Die Masse wird besonders zur Füllung der Knochengefässe empfohlen.

Brödel[20]) hat nach der Schiefferdecker'schen Methode, die durch Mixter und Mall etwas modificirt worden ist, die Blutgefässe der Niere dargestellt. Nachdem die Blutgefässe und das Nierenbecken ausgewaschen und dann durch Injektion von Alkohol und Aether von Wasser befreit waren, wurden mit Zinnober, Preussischblau und einem Arsenikpräparat gefärbte Celloidinmassen in die Arterien, Venen und das Becken eingespritzt. Hierauf wurden die Organe in eine Verdauungsflüssigkeit gebracht, welche aus 1 : 3000 Pepsin, das in 0,3—0,5%iger Salzsäure gelöst war, bestand. Die Verdauung war innerhalb von 4 oder 5 Tagen bis zu 2 Wochen vollzogen. Alsdann wurden die Präparate ausgewaschen und in Glycerin aufbewahrt, dem einige Tropfen Karbolsäure zugesetzt waren.

Storch[137]) verwendet zu makroskopischen Korrosionsinjektionen in Aceton gelöstes Celluloid, welches noch zäher ist als das Celloidin. Das käufliche Celluloid wird fein geschabt, die Späne in Aceton gelöst und mit Zinnober oder Kobaltblau gefärbt. Bei der Injektion von grösseren Gefässstämmen setzt man noch Kaolin hinzu, um der Masse mehr Körper zu geben. Die Farbstoffe machen die Celluloidmasse brüchig. Storch empfiehlt für Injektionen von Arterien oder Venen zarter Organe oder Organtheile, wenn es sich um eine einfache Injektion handelt, die Celluloidlösung ohne Farbstoff zu gebrauchen und erst das fertige Präparat durch Eintauchen in eine Farblösung zu tingiren. Zur Korrosion dient verdünnte rohe Salzsäure, in welcher die Präparate 2—3 Monate verweilen. Die Säure wird in dieser Zeit 2—3mal gewechselt. Die fertigen Präparate werden trocken aufbewahrt.

Altmann's Korrosionsmethode. Altmann[1]) führt Fette durch Injektion oder Imprägnation in die Gewebe ein, härtet und schwärzt dieselben mittels Ueberosmiumsäure und zerstört dann die Weichtheile mit Eau de Javelle.

1. Das Injektionsverfahren. Man injicirt Olivenöl so lange vom Herzen aus oder durch eine Arterie, bis dasselbe aus den Venen ausfliesst, und unterbindet dann durch eine Ligatur Arterie und Vene, damit das Oel nicht ausfliesse. Da die Ueberosmiumsäure nur in geringem Grade in die Tiefe der Gewebe eindringt, zumal wenn dasselbe viel Fett enthält, so kann man nur dünne Membranen direkt in die Ueberosmiumsäure einlegen. Hat man es aber mit parenchymatösen Organen zu thun, so muss man dasselbe zunächst gefrieren lassen (in gestossenem Eis mit salpetersaurem Natron überschüttet) und von dem gefrorenen Organ mit einem scharfen Messer dünne Scheiben abschneiden und diese in einer 1%igen Lösung von Ueberosmiumsäure fixiren. In dieser Lösung bleiben die betreffenden Theile etwa 24 Stunden und sind dann für die Korrosion mit Eau de Javelle fertig. — Die Korrosion nimmt man am besten in kleinen Glasschälchen vor, die eine Untersuchung ihres Inhalts bei durchfallendem Lichte und schwacher Vergrösserung gestatten. Je nach der Art des Gewebes und je nach der Stärke des käuflichen Eau de Javelle dauert die Korrosion einige Minuten bis zu einigen Stunden. Man prüft daher von Zeit zu Zeit, wie weit sich die Gewebe mittels Nadeln von einander trennen lassen. Bei zu langem Liegen werden nämlich auch die mit Ueberosmiumsäure geschwärzten Partien korrodirt und zerbröckeln. Die brauchbaren Theile der von der Korrosion zurückbleibenden Fettmassen werden mit einem Platinblech herausgefischt, der Ueberschuss von Eau de Javelle mit Fliesspapier abgesaugt und das Präparat auf einen Objektträger in Glycerin übertragen. Man reinigt das Präparat eventuell noch dadurch, dass man reines Glycerin auf dasselbe vorsichtig auftropfen lässt. Zum ersten Versuch empfiehlt Altmann die Niere vom Kaninchen. Sehr günstig erweist sich die Korrosion ferner für die Untersuchung der Chorioidalgefässe, der Haut des Frosches, auch für die Lymphgefässe daselbst, ferner die Lymphgefässe des Periostes.

2. Das Imprägnationsverfahren. Zur Fettimprägnation und nachträglichen Korrosion verwendet Altmann 1 Vol. Olivenöl, 1/2 Vol. Alkohol abs. und so viel Aether, bis sich das Ganze beim Schütteln klar mischt. In diese Mischung werden kleine Gewebsstücke behufs Durchtränkung eingelegt. Ausserdem verwendet Altmann mit gutem Erfolge eine Mischung von zwei Theilen Ricinusöl auf 1 Theil Alkohol. In den Mischungen bleiben die Objekte 5—8 Tage, alsdann werden dieselben in Wasser oberflächlich abgespült und in eine 1%ige Lösung von Ueberosmiumsäure übertragen. Das Korrosionsverfahren ist dasselbe wie vorher. Nach dieser Methode lassen sich verschiedene interessante Beobachtungen anstellen an Nerven- und Muskelfasern, Knorpel, Epithelien, Bindegewebe, Lymphkapillaren, Retina u. s. w.

Injektion von Drüsengängen.

Bei der Injektion von Drüsengängen kommen die gleichen vorbereitenden Präparationen und Handgriffe in Anwendung, welche bei den Injektionen von Gefässen in dem allgemeinen Theile auseinandergesetzt worden sind. Von verschiedenen Seiten (von der Schule Ludwig's, von Ranvier und v. Ebner) werden bei Drüseninjektionen Apparate mit konstantem Druck der Handspritze vorgezogen, weil das Gelingen der Injektion sicherer ist. Es ist unzweifelhaft, dass die Apparate sich für diese Injektionen sehr praktisch erweisen, unbedingt nothwendig sind dieselben jedoch nicht, weil man mit gut funktionirenden Spritzen und bei vorsichtiger Injektion die gleichen Resultate erhält. Die meisten zu Gefässinjektionen benutzten Massen wurden auch zu Drüseninjektionen in Anwendung gebracht, doch haben sie sich keineswegs alle gut bewährt. Die dickflüssigen Wachs-, Harz- und Leimmassen sind für feinere Injektionen von Drüsengängen gänzlich ungeeignet und können höchstens zur Füllung von gröberen Verzweigungen oder Kanälen oder Hohlräumen benutzt werden. Günstigere Resultate erzielt man mit Oelmassen, die auch vielfach zu dergleichen

Injektionen benutzt worden sind. Dieselben dringen im allgemeinen sehr gut ein, wenn aber die Ausführungsgänge mit Sekret gefüllt sind, so schiebt die Masse besonders in den engeren Gängen dasselbe vor sich her und verlegt letztere schliesslich vollkommen, ohne in dieselben eingedrungen zu sein. Auch liefern mit Oelmasse injicierte Präparate sehr ungleichmässige Bilder, welche durch unvollständige Füllung bedingt werden. Schliesslich haben die Oelmassen die bereits öfters erwähnte nachtheilige Seite, dass die damit injicirten Präparate in Alkohol fixirt werden müssen.

Die zur Injektion von Drüsen geeignetsten Massen sind die wässerigen oder glycerinhaltigen. Der Umstand, dass sich dieselben mit den Sekreten leicht mischen, ermöglicht denselben ein tieferes Eindringen in die Drüsengänge und eine vollkommenere Füllung der Lumina. Bei der Wahl des Farbstoffes wird man darauf bedacht sein, denselben in dem betreffenden Vehikel möglichst fein zu vertheilen oder noch besser zu lösen. Dabei muss der Farbstoff eine gewisse Transparenz und Intensität besitzen, und schliesslich darf der Farbstoff von den üblichen Fixationsreagentien nicht angegriffen oder verändert werden. Als ein solcher Farbstoff ist das lösliche Berlinerblau zu nennen, welches sowohl bereits früher wie auch in der neueren Zeit fast allgemein zu derartigen Injektionen benutzt worden ist, weil es alle angeführte Vorzüge in sich vereinigt. Dabei ist es ziemlich gleichgiltig, ob das Berlinerblau in rein wässeriger oder in glycerinöser Lösung benutzt wird.

Leimmassen. Harting [93]) meint, dass sich zur Füllung von Bronchen und Lungenbläschen Wachsmassen besser eignen als Leimmassen.

Joh. Müller gelang es, nach der Angabe von E. H. Weber [159]) die Gallengänge beim Kaninchen mit Leim und Zinnober auszufüllen.

Beale [8]) empfiehlt zur Injektion der Leber Leimmassen, die mit Bleichromat, Zinnober, vor allem aber mit Preussischblau gefärbt sind. Die Leber wird zunächst durch die Pfortader mit warmem Wasser durchgespritzt, alsdann 24 Stunden in einem Tuche zwischen Schwämmen unter Druck liegen gelassen, um das Wasser möglichst zu beseitigen, und schliesslich mit einer der Massen injicirt.

Robin [114]) empfiehlt zur Injektion von Drüsengängen die pag. 594 erwähnte Silbergelatine.

Friedenthal. [51]) Um das gesammte in den Lungen und Luftsäcken der Vögel enthaltene Luftquantum zu bestimmen, benutzt Friedenthal folgende Methode: Lässt man Thiere reinen Sauerstoff athmen, bis aller Stickstoff aus den Lungen und deren Nebenräumen entfernt ist, und verbindet dann die Trachea mit einem Rohr, welches in flüssige Gelatine taucht, so absorbiren die Gewebe nicht nur allen verfügbaren Sauerstoff, sondern sie nehmen auch alle geathmete Kohlensäure wieder auf, so dass die Gelatine ohne irgend einen Injektionsdruck alle Räume ausfüllt. Die Gelatine wird zweckmässig mit irgend einem unlöslichen Farbstoff, wie chinesischer Tusche oder Berlinerblau gefärbt. Zur mikroskopischen Untersuchung der Lungen vermischt man am besten eine 10%ige gefärbte Gelatine mit dem gleichen Volumen einer 4%igen Formollösung. Die Verbindung der Gelatine mit dem Formol zu einem unlöslichen Körper erfolgt bei Körpertemperatur so langsam, dass die Selbstinjektion der Lungen durch sie nicht gehindert wird.

Oelmassen. Harting [93]) empfiehlt zur Füllung von lufthaltigen Räumen, Knochenzellenhöhlen, Zahnkanälchen, Tracheen, Intercellularräumen von Pflanzen folgendes Verfahren: Das zu injicirende Objekt kommt in einer gefärbten Flüssigkeit unter die Glocke einer Luftpumpe, wird dann die Luft ausgepumpt und lässt man nachher wieder neue Luft eintreten, so dringt die gefärbte Flüssigkeit in die früher mit Luft gefüllten Höhlungen. Doch muss die Flüssigkeit sehr intensiv gefärbt sein, Karmin oder Berlinerblau sind dazu unzureichend. Zu diesem Zwecke wird fein gestossene Alkannawurzel mit Terpentinöl ausgezogen und der Auszug noch im Sand- oder Wasserbade eingedickt. Zahnkanälchen füllen sich bei einem Drucke von nur 4 Mm. erst nach 4—5 Tagen vollkommen. Das Einlegen solcher Präparate in Kanadabalsam ist ausgeschlossen.

Asp [3]) injicirte Gallengänge mit einer Lösung von Alkannin in Terpentinöl. Die Lösung geht unter einem Drucke von 25 Mm. Quecksilber äusserst rasch in dem Gallengange vorwärts, dringt jedoch in den Gallenkapillaren nicht weiter vor, sondern geht in die Zellen über. Zu ähnlichen Resultaten gelangte nach den Angaben von Asp E. H. Weber mit seiner spirituösen Lösung von Gummigutta. Asp wiederholte den Versuch Weber's mit dem gleichen Erfolge, indem er das käufliche Gummigutta mit Alkohol auszog, die Lösung filtrirte und dann eindampfte. Schliesslich injicirte er auch lösliches Berlinerblau.

Fleischel[43]) benutzte zur Injektion der Gallengänge eine Lösung von Alkannin in Terpentinöl, verwarf dieselbe aber bald, nachdem er sich überzeugt hatte, dass sich die Masse bei der Härtung der Objekte sehr langsam oder gar nicht eindickt und beim Schneiden das Präparat beschmutzt. Nach Fleischel eignet sich zur Darstellung der Gallenkapillaren keine Masse besser als eine filtrirte Lösung von Asphalt in Chloroform. Auch wurde lösliches Berlinerblau angewandt.

Wässerige Massen. Eberth[36]) hält Leimmassen oder in Wasser suspendirtes Karmin zu Injektionen der Leber für untauglich und empfiehlt lösliches Berlinerblau oder auch chinesische Tusche.

Saviotti[123]) benutzte zur Injektion des Pankreas lösliches, nach Brücke's Methode dargestelltes Berlinerblau. Da letzteres bei Berührung mit Pankreassaft wie überhaupt durch alle alkalischen Flüssigkeiten entfärbt wird, so wird das Pankreas nach der Injektion zweckmässig in mit Essigsäure versetztem Alkohol fixirt. Nach 1—2 Tagen wird das Präparat in kleinere Stücke zerschnitten und in gleiche Theile von destillirtem Wasser und Essigsäure übertragen. Hierdurch wird die Farbe wieder vollkommen hergestellt.

v. Ebner[27]) verwendete zur Injektion der Speicheldrüsen und des Pankreas das lösliche, nach der Vorschrift von Brücke bereitete Berlinerblau, und zwar meist in wässeriger Lösung, seltener in Verbindung mit Glycerin.

Frey[50]) benutzt das Turnbull'sche Blau zur Injektion von Drüsengängen, Harnkanälchen, Gallennetzen und Lymphbahnen. Sind die zu füllenden Gänge sehr klein, so nimmt man die doppelte Menge der Salze (schwefelsaures Eisenoxydul und rothes Blutlaugensalz) auf je 30 Ccm. Wasser. Auch kann man noch Glycerin hinzufügen. Zu den gleichen Zwecken verwendet Frey die früher beschriebene Masse mit schwefelsaurem Baryum.

Hochstetter.[68]) Um Hohlräume im embryonalen Körper zu füllen, verfährt Hochstetter in folgender Weise: Die bereits fixirten Stücke werden nach Durchführung durch Alkohole in eine Mischung von 1 Theil Nelkenöl auf 2 Theile Chloroform gebracht. Nimmt man die Objekte nach völliger Durchtränkung aus diesem Gemisch heraus, so beginnt das Chloroform alsbald zu verdunsten, wobei Luft aufgenommen, resp. in die Hohlräume angesogen wird. Hochstetter lies nun nicht Luft, sondern in Wasser verriebene chinesische Tusche mittels eines kleinen Röhrchens, um das Präparat selbst nicht zu beschmutzen, aufsaugen. Die Tusche bleibt an den Wandungen der Räume haften. Werden die Präparate dann in reines Nelkenöl eingelegt, so verschwindet das Wasser allmählich, und man erhält ein klares Bild der Dimensionen des Hohlraumes, z. B. der Trachea und Lungen.

Injektion von niederen Thieren.

In der allgemeinen Injektionstechnik sind neben den bei höheren Thieren üblichen Methoden bereits verschiedene bei der Injektion von niederen Thieren zu beobachtende Handgriffe angeführt worden. Die Schwierigkeiten, welche beim Injiciren von niederen Thieren dem Untersucher entgegentreten, sind so mannigfacher Art, dass es kaum möglich ist, irgend welche allgemeinere Vorschriften zu geben. Für jede Thierart muss die geeignetste Methode erst ausprobirt werden. Die Schwierigkeiten liegen zunächst in der Narkotisirung oder Abtödtung der Thiere, dann in der geeigneten Auswahl des Instrumentes, mit welchem die Injektion ausgeführt werden soll: ob Spritze mit stumpfer Kanüle zum Einbinden, oder spitzer Kanüle zum Einstich, oder fein ausgezogene Glasröhren, resp. Pipetten nach Angabe von Strauss-Durckheim, Harting, Kanülenhalter nach Lacaze-Duthiers. Schliesslich kommt es auf die richtige Auswahl der Injektionsmasse an. Im allgemeinen wird man sich der kaltflüssigen Massen bedienen, und zwar der wässerigen oder glycerinösen Massen, ferner der Eiweiss-, Leim-, Harz- und Oelmassen. Bei der engeren Wahl ist dann der Zweck, den man mit der Injektion verfolgt, massgebend, für mikroskopische Untersuchungen wird man die transparenten, für mehr makroskopische die opaken Massen bevorzugen.

Ausser den in den früheren Abschnitten aufgezählten Injektionsmassen, sind im folgenden die speciell für niedere Thiere empfohlenen Vorschriften aufgeführt. Eine erschöpfende Zusammenstellung ist damit wohl sicher nicht gegeben, doch war es dem Referenten nicht möglich, mehr Literaturangaben zu finden.

Lauth[84]) führt an, dass man sich zur Injektion der Gefässe von Mollusken und Insekten der Milch bedient, welche man durch Benetzung der Präparate mit starkem Essig oder mit verdünnten mineralischen Säuren zur Gerinnung bringt.

Robin[114]) empfiehlt zur Injektion von Mollusken und Anneliden ebenfalls ungefärbte oder auch gefärbte Milch. Falls man sorgfältig zubereitete Massen nicht zur Hand hat, kann man auch verschieden gefärbte Tinten allein oder zu einer Gummi- oder Gelatinelösung zugemischt benutzen. Leichtflüssige transparente Massen (auch Terpentin) sind sonst am geeignetsten.

Strauss-Durckheim[138]) empfiehlt zur Injektion von Mollusken seine pag. 597 erwähnte ölige Masse. Für die feinsten Gefässe benutzt er den daselbst angegebenen Auszug von Oreanète in Terpentin oder Lavendelöl.

Moseley[98]) injicirt die Blutgefässe von Coleopteren in folgender Weise: Es wird der Flügel an einem lebenden grossen Coleopter, z. B. Dytiscus, Hydrophilus, Melolontha, mit der Schere quer durchschnitten. Auf dem Querschnitt erscheint alsbald eine Reihe von Blutstropfen, welche die Lage der Blutgefässe bezeichnen. In diese wird die Injektionskanüle eingesetzt. Die letztere besteht aus einer in eine feine Spitze ausgezogenen Glasröhre. An das entgegengesetzte Ende der letzteren wird ein kleines Gummirohr angebunden, dieses wird mit Injektionsmasse gefüllt und am freien Ende fest verschlossen. Die Spitze der geladenen Kanüle führt man vorsichtig in das blutende Gefäss, so dass sie fest an die Wand desselben anschliesst. Der nöthige Druck wird durch Zusammenpressen der Gummiröhre erzeugt. Von den Injektionsflüssigkeiten eignet sich am besten eine Lösung von Indigkarmin, sie schreitet in den Gefässen rascher fort als eine Lösung des rothen Karmins oder des Berlinerblaus. Nachtheilig ist allerdings dabei, dass das Indigkarmin vom lebenden Thiere sehr rasch in die Drüsen ausgeschieden wird.

Joseph[78]) empfiehlt die pag. 593 angegebene Eiweiss-, respective kaltflüssige Leimmasse zur Injektion wirbelloser Thiere. Zur Erforschung von lacunären Kreislaufsbahnen wird die Methode der Autoinjektion mit Karmineiweissmasse empfohlen. Dabei ist es von Vortheil, die Thiere auf Eis liegen zu lassen, wodurch sie in Trägheit erhalten werden.

Flemming[44]) injicirte das Gefässsystem von Unio- und Anodonta. Zu diesem Zwecke lässt Flemming die Thiere durchfrieren. Hierauf legt man sie in schwach laues Wasser und findet dieselben nach etwa einer halben Stunde klaffend, schlaff und todt. Bei diesem Verfahren leisten die Muskeln der Injektion keinen Widerstand, während die Gewebe gut erhalten bleiben. Die Gefässe werden mit leicht flüssigen kalten oder auch nach leichter Vorwärmung der Thiere mit Leimmassen gefüllt. Um das Ausfliessen der Masse zu vermeiden, thut Flemming Gypsbrei auf eventuell verletzte Stellen oder auch die Einbindungsstelle der Kanüle (das Gleiche empfiehlt Flemming auch bei Injektionen von Wirbelthieren). — Trotzdem ist es Flemming nicht gelungen, eine wirklich vollkommene Injektion der gesammten Gefässe zu erhalten.

Sabatier[121]) injicirte Mollusken zu makroskopischen Untersuchungen mit einer Mischung von Sandarak (saindoux) und Terpentin. Das Verhältniss beider variirt je nach der Jahreszeit. Im Sommer fügt er der Mischung noch etwas Talg oder Wachs hinzu. Zur Färbung benutzt er Oelfarben, wie Chromgelb, Zinnober und Ultramarinblau. Bei Injektionen zu mikroskopischen Studien wandte Sabatier entweder Terpentin an, das mit einer der Oelfarben gefärbt war, oder Gelatine. Letztere wurde entweder mit ammoniakalischem Karmin oder in Oxalsäure gelöstem Berlinerblau oder mit Chromgelb gefärbt. Auch das Einblasen von Luft ergab oft gute Resultate bei der Präparation der Gefässe.

Griesbach[58]) bedient sich bei Injektionen von Mollusken der von Sabatier empfohlenen oder eigener selbst bereiteter Massen. Die kalten Massen sind den warmen vorzuziehen. Erstere bereitet er sich in folgender Weise: »Gleiche Theile von weissem und gelbem Wachs werden in Terpentinöl unter Erwärmen gelöst und nach dem Erkalten unter Umrühren mit Olivenöl oder Rüböl, in welchem Bleisulfat verrieben war, versetzt. Das Resultat ist eine weisslich-gelbe Flüssigkeit von Syrupkonsistenz, für manche Injektionen recht brauchbar. Statt des schwefelsauren Bleies habe ich mehrfach auch Baryumsulfat oder Jodblei mit dem Oel verrieben. Durch Zusatz von Walrath beim Lösen in Terpentinöl kann man die Masse dünnflüssiger machen.« — Soll ein Injektionspräparat behufs mikroskopischer Untersuchung geschnitten werden, so empfiehlt Griesbach zur Füllung der Gefässe in der Kälte flüssigen Leim, einfachen Gummileim oder Gummi arabicum mit oder ohne Glycerinzusatz. Den Leim kann man mit verschiedenen Farbstoffen tingiren. Für in der Wärme flüssige Gelatinemassen hat Griesbach ausser den bekannten Farbstoffen das Uranchlorid als Zusatz benutzt. Die herrlichsten Färbungen geben Anilinfarbstoffe, namentlich gewisse Azoverbindungen, wie Biebericher Scharlach, Crocein, Tropaeolin 00, Tropaeolin 000 Nr. 2 etc., auch kann man Erythrosin, Safranin, Methylen- und Aethylenblau u. a. benutzen. Die besten Resultate hat bei den Injektionen die von Flemming angegebene Gefrierungsmethode geleistet.

Injektion der Lymphgefässe.

Historisches. Obwohl die Lymphgefässe bereits im Alterthum bekannt gewesen sein sollen, fanden dieselben dennoch nicht die ihnen gebührende Berücksichtigung, ja geriethen vollkommen in Vergessenheit, bis sie im Jahre 1622 von Aselli[2]) wieder entdeckt wurden. Als er nämlich zum Zwecke des Studiums der Bewegungen des Diaphragmas einen

Hund eröffnete, der einige Stunden zuvor gefüttert worden war, erblickte er die durch natürliche Injektion strotzend gefüllten Chylusgefässe. Weitere Untersuchungen belehrten ASELLI, dass diese Gefässe zum grössten Theil gegen eine Drüsenmasse, das Pankreas Aselli, gerichtet sind und dass dieselben Klappen besitzen. Die Beziehungen der Chylusgefässe zum Ductus thoracicus blieben ASELLI unbekannt, obwohl letzterer bereits 1563 von EUSTACHIUS [41]) beschrieben worden war. Im Jahre 1653 entdeckten T. BARTHOLIN [6]) und RUDBECK [116]) gleichzeitig, jedoch ganz unabhängig von einander, die durch natürliche Injektion gefüllten Lymphgefässe an der Oberfläche der Leber.

Die Methode der Darstellung der Lymphgefässe durch natürliche Injektion ist dann noch vielfach zu Untersuchungen angewandt worden. Ausser den älteren Anatomen bedienten sich dieser Methode CRUIKSHANK [28]), J. MÜLLER [100]), welche Milch oder gefärbte wässerige Flüssigkeiten, BRÜCKE [21]), welcher mit Alkannawurzel gefärbtes Terpentin in den Darm einführte und durch die Chylusgefässe aufsaugen liess. Vielfach wurde auch in der Weise verfahren, dass gefärbte Flüssigkeiten in Körperhöhlen, in Drüsengänge, in Blutgefässe oder subkutan eingespritzt wurden. Die Flüssigkeiten gingen dann zum Theil wenigstens in die Lymphgefässe über und ermöglichten damit ihre Untersuchung (MASCAGNI [93]), LAUTH [84]), HERBST [64]), ROBIN [114]), RANVIER [107]), BODDAERT [14]). Dass diese Methode, wie TEICHMANN sagt, keinen besonderen Erfolg versprechen konnte, liegt auf der Hand. RUYSCH [120]) blies die Lymphgefässe mit Luft auf und trocknete sie dann in diesem Zustande. Mittels dieser Methode gelang es ihm, die bis dahin noch immer angezweifelte Existenz der Klappen in der unzweideutigsten Weise klar zu legen.

Von sehr wesentlichem Einfluss auf die Erforschung des Lymphgefässsystems war die Einführung des Quecksilbers in die Injektionstechnik durch NUCK [101]) im Jahre 1692. NUCK selbst hatte bereits mittels der Quecksilberinjektionen die Lymphgefässe des Körpers »a capite ad calcem«, wie er sich ausdrückt, klar gelegt; ihm folgte eine Reihe von bedeutenden Forschern, von denen hier nur MONRO [97]), CRUIKSHANK [28]), MASCAGNI [93]), WERNER und FELLER [160]), FOHMANN [46]), LAUTH [85]), HYRTL [76]), SAPPEY [122]), GEROTA [56]) genannt werden sollen.

Ausser den angeführten Methoden scheinen in früheren Zeiten auch Injektionen mit dickflüssigen, erstarrenden Massen allerdings ohne wesentliche Erfolge in Gebrauch gewesen zu sein. So erwähnt MASCAGNI [93]), dass man die Lymphgefässe mit Hausenblase, Wachs, Talk oder verdünntem Gyps füllen könne. Desgleichen hat später v. PATRUBAN [103]) die Lymphgefässe mit Massen von Leim, Hausenblase, Harz, Wachs und Dextrin injicirt. Wesentlich vervollkommnet wurden dieselben durch HYRTL und TEICHMANN.

In neuerer Zeit kommen nur noch leichtflüssige, wässerige oder ölige Massen zur Verwendung.

Apparate zur Lymphgefässinjektion. Ausser den bei Quecksilberinjektionen benutzten Apparaten, welche aus dem Grunde unberücksichtigt geblieben sind, weil die Injektionen mit Quecksilber für die mikroskopische Technik überhaupt nicht in Betracht kommen, sind sämmtliche bei Lymphgefässinjektionen benutzten Apparate und Spritzen bereits angeführt worden. Von den Apparaten mit konstantem Druck ist man nunmehr gänzlich abgekommen, weil man sich überzeugt hat, dass mit den Handspritzen die gleichen Erfolge erzielt werden können. Am häufigsten werden jetzt kleine Spritzen mit feinen Stahlkanülen und die von GEROTA angegebene Spritze mit Glaskanülen benutzt. Erst kürzlich wurde von DALLA ROSA zu Lymphgefässinjektionen eine Spritze eigener Konstruktion mit Stahlkanülen empfohlen.

Methoden des Injicirens. Infolge des Klappenreichthums der Lymphgefässe ist man in den meisten Fällen genöthigt, die Gefässe in der Richtung des Lymphstromes, d. h. centripetal zu injiciren. Hyrtl giebt jedoch an, dass es ihm gelungen ist, in gewissen Organen, besonders am Darm, recht gute und vollkommene Füllungen der Lymphgefässe durch Injektionen in centrifugaler Richtung zu erhalten, wenn man sich nur die Mühe nehme, den jedesmaligen durch die Klappen verursachten Widerstand durch sanftes Streichen zu überwinden. Stilling[136]) gelang es, auf diese Weise die Lymphgefässe der Nebennieren zu füllen.

Statt des mühsamen Einführens der Kanüle in die Lichtung des Gefässes wird dieselbe jetzt stets in das Gewebe eingestochen. Bei Schleimhäuten gelingt dies sehr leicht, nicht aber bei der äusseren Haut. Hier macht man zunächst entweder mit einer feinen Starnadel (Teichmann) einen Einstich, oder man schneidet mittels eines feinen Skalpells die Epidermis vorsichtig durch. Von dem Stich oder Schnitt aus wird die Kanüle, die bereits an der Spritze befestigt sein muss, der Hautoberfläche parallel eingeführt. Hyrtl[77]) hat die gleiche Methode auch zur Lymphgefässinjektion von drüsigen Organen benutzt. Um die oberflächlichen Lymphgefässe der Lunge zu füllen, führt man in die A. oder V. pulmonalis eine feine Metallröhre möglichst tief ein. Hierauf wird in die Röhre eine zweischneidige Nadel so weit eingeschoben, dass die Spitze aus dem Ende der Röhre etwas hervorragt. Mittels dieser Nadel durchsticht oder durchschneidet Hyrtl die Gefässwände. Hierauf wird die Nadel sammt Röhre herausgezogen und die Blutgefässe werden mit einer leicht flüssigen Masse injicirt. Man erhält ein Präparat der oberflächlichen Lymphgefässe der Lunge, »wie es noch nie gesehen, nicht einmal abgebildet wurde«. Bei anderen Organen (Leber, Thymus, Gehirn, Nieren, Uterus, Milz) war der Erfolg der Injektion weniger sicher als an der Lunge, »doch eklatant genug, um das Verfahren als ein sich bewährendes zu empfehlen«.

Injektionsmassen. Gerota[56]) hat die meisten bei Lymphgefässinjektionen benutzten Massen auf ihre Brauchbarkeit geprüft und ist zu dem Schlusse gelangt, dass sich die öligen Massen hierzu am besten eignen. Als Vehikel dient Terpentinöl und Aether und als Farbstoff eine der käuflichen Malerölfarben in Zinntuben. Sehr unangenehm ist bei Anwendung dieser Massen der Umstand, dass dieselben Hände und Spritze sehr beschmutzen und die Farbe besonders von den Fingern schwer zu beseitigen ist. Auch haben die mit Oelmassen ausgeführten Injektionen den Nachtheil, dass sich dieselben zu mikroskopischen Untersuchungen nicht verwenden lassen. Daher sind in neuester Zeit mehrere Autoren zu den schon früher vielfach benutzten wässerigen Massen zurückgekehrt und empfehlen entweder das lösliche Berlinerblau oder die käufliche flüssige Tusche oder fein verriebene chinesische Tusche (Dalla Rosa, Lendorf). Schliesslich werden zum genaueren Studium der Lymphgefässe noch Silbernitratlösungen benutzt. Dieselben wurden früher ohne weitere Zusätze injicirt, neuerdings empfiehlt Renaut eine Mischung von Silbernitrat, Osmium- und Pikrinsäure, die zu Lymphgefässinjektionen sich vorzüglich eignen soll.

Hyrtl's Massen. Hyrtl[70]) benutzte entweder die pag. 596 angegebene und mit Aether versetzte Harzmasse oder eine mit Mohnöl oder Terpentingeist verriebene und mit Chromgelb oder Kremnitzerweiss gefärbte Wachsmasse, die ebenfalls mit Aether flüssiger gemacht wurde.

Teichmann's Massen. Teichmann[146, 147]) bediente sich in einzelnen Fällen der Masse von Hyrtl oder der pag. 597 angeführten Masse von Zinkweiss, Leinöl und Aether. Dieselbe benutzt auch Dalla-Rosa zur Injektion von tieferen Lymphgefässen.

Alkannamassen. Brücke[21]) machte die Chylusgefässe sichtbar, indem er mit Terpentin ausgezogene Alkannawurzel in den Darm einspritzte.

Genersich[54]) findet, dass in Terpentin gelöstes Alkannin die zweckmässigste Injektionsmasse ist. Als Nachtheile derselben führt er an: Beim Trocknen des Präparates wird

die Alkanninlösung ausgepresst, in Alkohol löst sie sich, in Glycerin und in wässerigen Konservirungsmitteln bleibt die Masse flüssig und in alkalischen Flüssigkeiten nimmt dieselbe eine blaue Farbe an. Zur mikroskopischen Untersuchung sind die Präparate gar nicht geeignet.

Schwalbe[128]) injicirte die Lymphbahnen der Netzhaut und des Glaskörpers entweder mit Alkannin, welches in Terpentin gelöst war, oder mit löslichem Berlinerblau.

Waldeyer[158]) benutzte zu Einstichinjektionen in die Cornea und Sklera eine Lösung von Alkanna in Terpentin oder einen ätherischen Extrakt der Anakardiumnüsse. Die Farbe des letzteren ist sehr intensiv. Die damit injicirten Präparate »lassen sich aber auch nicht gut aufbewahren«.

Tillmanns[150]) führte behufs Untersuchung der Lymphgefässe der Gelenke Berlinerblau, Alkannin, Orleans, indigoschwefelsaures Natron in die Gelenkhöhle ein, führte längere Zeit hindurch Streck- und Beugebewegungen aus und untersuchte dann, welche Wege der resorbirte Farbstoff eingeschlagen hat. Diese Versuche hatten meistens keinen Erfolg. Günstiger erwiesen sich Einstichinjektionen mit Berlinerblau oder Silbernitratlösung.

Gerota[56]) hat Lösungen von Alkanna in Terpentin oder Aether zu Lymphgefässinjektionen versucht, findet dasselbe aber ungeeignet, weil es durch die Gefässe etwas hindurchschwitzt und die sie umgebenden Fettschichten färbt. Er bereitet sich dasselbe in der Weise, dass er 1 Grm. Alkanna in 3 Grm. Terpentin löst, durch doppelt zusammengelegte Leinwand filtrirt und darauf 15 Grm. Aether hinzufügt.

Asphaltmassen. Fleischel[43]) injicirte mit einer filtrirten Lösung von Asphalt in Chloroform die Gallengänge und findet, dass die Masse von dort auch leicht in die Anfänge der Lymphgefässe vordringt.

Budge[23]) benutzte zur Injektion der Lymphgefässe der Leber Berlinerblau oder eine concentrirte Auflösung von Asphalt in Chloroform, der er unmittelbar vor dem Gebrauch noch $^1/_3$ Volumen Chloroform hinzufügte.

Zur Injektion von periostalen Lymphgefässen hat Budge[24]) Lösungen von Asphalt in Terpentin, Chloroform und Benzol angewandt. Die Lösungen von Asphalt in Terpentin haben den Nachtheil, dass sich nur wenig Asphalt löst und daher die injicirten Gefässe nur schwach hervortreten. Die Masse bleibt lange flüssig, setzt aber nach längerer Zeit dann doch den Farbstoff in festen Partikeln ab. Obwohl sich die Lösungen von Asphalt in Chloroform seit Jahren am besten erwiesen haben, zieht Budge für die Injektionen der periostalen Lymphgefässe eine Lösung von Asphalt in Benzol vor, weil sich erstens viel Substanz löst und zweitens weil die Lösung weniger flüchtig ist als Chloroform, aber flüchtiger als Terpentin. Budge bereitet die Masse in folgender Weise: Auf eine grosse Menge Asphalt wird Benzol gegossen und mehrere Tage in einer gut verschlossenen Flasche stehen gelassen. Vor dem Gebrauch wird je nach Umständen $^1/_3$—$^1/_2$ Volumen Benzol noch zugefügt und filtrirt.

Rutherford[118]) empfiehlt das in Chloroform gelöste Asphalt zur Injektion von Lymphgefässen.

Gutmann[60]) injicirte die Cornea von möglichst frischen Augen probeweise mit dem ätherischen Extrakt der Anakardiumnüsse, ferner mit Asphalt in Chloroform in 10%iger Koncentration oder schliesslich mit einer 1- und 10%igen Chloroform-Lanolinlösung. Am geeignetsten erwies sich die Asphaltmasse, welche sich sehr gleichmässig nach allen Richtungen hin verbreitet, ohne dass der Farbstoff in die Umgebung der injicirten Theile diffundirt.

Bonemann[16]) konnte mit einer Asphalt-Chloroformlösung oder mit verriebener chinesischer Tusche nach Taguchi in der Magen- und Darmmuskulatur von Katzen und Schweinen die Lymphgefässnetze im Bindegewebe zwischen den einzelnen Muskelbündeln, ja sogar die Räume zwischen den Zellen der Muskelbündel füllen.

Gerota[55]) findet, dass das in Chloroform oder Benzol gelöste Asphalt zwar sehr gut eindringt, sich die Präparate ferner leicht aufbewahren und mikroskopisch untersuchen lassen, dass aber die Masse infolge der grossen Flüchtigkeit des Chloroforms sich schnell eindickt und dass das Arbeiten mit derselben sehr unsauber ist. Das Benzol ist zwar weniger flüchtig, doch ist das Arbeiten mit der Benzolmasse ebenso unsauber.

Oelmassen von Gerota. Gerota's[55]) blaue Masse. Zu 2 Grm. der in Stannioltuben erhältlichen blauen Oelfarbe, welche die Maler mit dem Namen »Preussischblau« bezeichnen, giebt man 3 Grm. reinen Terpentinöls und, nachdem man das Ganze in einem Porzellanmörser tüchtig verrieben hat 15 Grm. Schwefeläther hinzu, filtrirt sodann durch doppelte feine Leinwand und bewahrt die Masse in einer mit einem eingeschliffenen Glasstöpsel verschlossenen Glasflasche auf.

Diese blaue Masse ist bei allen späteren Untersuchungen des Lymphgefässsystems am häufigsten von den Autoren angewandt worden.

Schwarze Masse. Als schwarze Farbe benutzt Gerota die unter dem Namen »absolut Schwarz« (ein aus der mineralischen Kohle — Thonschiefer — gewonnenes Pulver) käufliche Farbe. 5 Grm. hiervon werden mit 5 Grm. ungekochten Leinöls 10 Minuten lang in einem Porzellanmörser verrieben, sodann 10 Grm. Terpentinöl und 10—15 Grm. Aether hinzugesetzt. Die Masse wird filtrirt und vor dem Gebrauch gut durchgeschüttelt.

Rothe Masse. Zur rothen Masse benutzt Gerota den käuflichen »unter Wasser geriebenen« Zinnober in feinster Pulverform. 5 Grm. werden mit 15—20 Tropfen unge-

kochten Leinöls so lange in einem gewärmten Porzellanmörser verrieben, bis ein zäher Teig entsteht (10—15 Minuten), dieser wird mit 3 Grm. Terpentinöl und 5 Grm. Chloroform aufgeschwemmt, sodann filtrirt und gut verschlossen aufbewahrt.

Alle angegebenen Massen sind zu jeder Injektion frisch zu bereiten, nur die blaue ist haltbar.

Dalla Rosa[29]) findet, dass die Injektionsmethode von Gerota neben grossen Vorzügen folgende Nachtheile besitzt: Die Zubereitung der Masse ist umständlich und zeitraubend, ferner ist das Arbeiten mit derselben ein höchst unsauberes und schliesslich verliert die Masse ihre blaue Farbe unter der Einwirkung von Fäulniss. Verfasser zieht daher seine unten angeführte Masse der Gerota'schen vor.

Leimmassen. Teichmann[146]) benutzt zur Injektion von sehr feinen Lymphgefässen und Lymphknoten eine gefärbte Leimmasse. Die Farbstoffe bereitet sich Teichmann stets aus essigsaurem Bleioyxd und Kohlen- oder chromsaurem Kali. Die Mischung der Salzlösungen geschieht in der Leimlösung. Den Niederschlag von chromsaurem Bleioxyd in der Leimlösung muss man bei einem geringen Ueberschuss des chromsauren Kali bis zum Kochen erwärmen, damit die Körnchen des Niederschlages eine scharfe und regelmässige Form erhalten. Die Leimmasse mit Bleichromat wird in einer weithalsigen Flasche unter Wasser aufbewahrt und hält sich monatelang.

Auch Chlorsilber leistet in manchen Fällen ausgezeichnete Dienste. Man stellt die Masse in der Weise dar, dass man dem aufgelösten Leime zuerst eine Silbernitratlösung zusetzt und beides innig vermischt. Hierzu fügt man eine Kochsalzlösung. Macht man die Reihenfolge anders, so entsteht ein flockiger Niederschlag.

Frey[50]) empfiehlt 3 Theile der Silbernitratlösung mit der Leimsolution zu mischen und dann 1 Theil Kochsalzlösung hinzuzufügen.

His[66]) benutzte eine aus chromsaurem Blei und Leim zusammengesetzte Masse.

Langer[83]) benutzte zur Füllung des Perichorioidealraumes im Auge entweder wässerige Berlinerblaulösung oder eine mit dieser versetzte Leimlösung. Hierbei wurde eine speciell zu diesem Zwecke konstruirte Kanüle angewandt, welche denen ähnlich ist, die in der Anatomie verwandt werden, wenn es sich darum handelt, Gefässe zu injiciren, ohne deren Kontinuität aufgeben zu müssen. »Eine solche Kanüle besitzt am Ende nicht eine abgeschrägte Spitze, sondern eine senkrecht auf ihre Längenachse aufgesetzte Platte, die eine der Oberflächenwölbung des Bulbus entsprechende Krümmung besitzt; über dem Rohre der Kanüle verschiebt sich ein zweites Rohr, das mit einer gleichen Endplatte versehen ist, welche vermittels eines Schraubengewindes an die erste Platte angepresst werden kann. An der zur Injektion passend erscheinenden Stelle wurde die Sklera vorsichtig in meridionaler Richtung eingeschnitten, bis das Gewebe der Chorioidea zur Ansicht kam; dann wurde durch diesen Schnitt die Endplatte der Kanüle zwischen Sklera und Chorioidea eingeschoben und die zweite Platte durch das Schraubengewinde angepresst, so dass der Skleraschnitt durch die aneinandergedrückten Platten wieder vollständig verschlossen wurde.« Das Verfahren hat den Vortheil, dass erstens die Kanüle sicher im Perichorioidealraume bleibt und zweitens, dass jede Verletzung der Aderhautgefässe sehr gut vermieden wird.

Ranvier[106]) giebt an, dass die Lymphgefässe in der Froschhaut keine Klappen besitzen, man daher dieselben vom Centrum nach der Peripherie injiciren kann. Da das wässerige Berlinerblau mit der Lymphe einen Niederschlag giebt, so fügt R. demselben eine geringe Menge Gelatine hinzu, die das Auftreten des Niederschlags verhindert. R. verfährt bei der Darstellung der Lymphgefässe in der Weise, dass er einem Frosch vom Hinterbeine die Haut abzieht und den Hautstrumpf mit der Injektionsmasse füllt. Die Masse dringt dann in die Lymphgefässe von selber ein.

Gerota[56]) findet, dass die blaue Gelatinemasse die Gefässe zwar noch besser als die wässerige Lösung des Berlinerblaus füllt und sie daher anschaulicher macht, dass aber die relativ dickflüssige Masse schwieriger in den Gefässen vordringt. Nachtheilig ist dabei die Vorwärmung der Präparate.

Wässerige Massen. Beale[8]) benutzt seine pag. 576 angeführten Massen auch zur Injektion von Lymphgefässen. Letztere sind leichter aufzufinden, wenn das Gewebe nach vorausgegangener Blutgefässinjektion etwas ödematös geworden ist.

Frey[49, 50]) räth, vor der Injektion die Objekte entweder für längere Zeit ins Wasser zu legen, oder injicirt Wasser in die Blutgefässe, oder unterbindet den Ductus thoracicus. Die Lymphgefässe füllen sich hierdurch stärker und werden sichtbar. Zur Injektion empfiehlt er die von den englischen Autoren gebrauchten Massen, die blaue von Richardson und die rothe von Beale; nur nothgedrungen bediente sich F. einer opaken Masse, welche er aus Chlorbaryum und Schwefelsäure bereitete. Der Niederschlag von schwefelsaurem Baryum wurde mit Alkohol und Glycerin aa. gemischt.

Die grösste Anzahl der Autoren bediente sich zur Darstellung der Lymphgefässe des im Wasser löslichen Berlinerblaus mit oder ohne Zusatz von Glycerin. Von den Autoren seien hier erwähnt: Ludwig und Tomsa[90]), Schwalbe[128]), Tillmanns[150]), Klein[29]), Budge[24]), v. Thanhoffer[148]), Stilling[136]), Disse[33]), Langer[83]), Ranvier[107]), Lendorf[87]). Stilling[136]) räth, das Berlinerblau in Brunnenwasser zu lösen, weil destillirtes Wasser die Gewebe zu sehr quellen lässt.

Gerota[56]) berichtet, das lösliche Berlinerblau biete die Vortheile, dass das damit injicirte Präparat mikroskopisch untersucht werden kann, dauerhaft ist und sich leicht aufbewahren lässt; nachtheilig ist, dass das Berlinerblau keine genügende Durchdringungsfähigkeit besitzt und daher die Gefässe bei stärkerem Injektionsdruck leicht platzen.

Mit Tusche bereitete Massen. Taguchi[144]) empfiehlt seine pag. 574 angeführte Masse zur Injektion von Lymphgefässen und Saftlücken.

Dalla Rosa[29]) zieht den Gerota'schen Massen die im Handel vorkommende flüssige Tusche vor, welche noch 2—3 mal mit Wasser verdünnt wird. Dieselbe dringt sehr gut vor und besitzt nicht die nachtheiligen Eigenschaften der Oelmassen.

Lendorf[87]) hält das lösliche Berlinerblau und die Gerota'schen Massen zur Injektion von Lymphgefässen der Muscularis der Harnblase für sehr geeignet, zur Injektion der Lymphgefässe der Mucosa zieht er jedoch chinesische Tusche vor. Dieselbe wird in einer reinen Schale mit Wasser angerieben. Hat man eine entsprechende Menge erlangt, so wird dieselbe in die Spritze aufgesaugt, indem sie zugleich durch Leder filtrirt wird. Ein Stückchen gewöhnlichen Waschleders wird mit dünnem Bindfaden straff über die Mündung des metallenen Endstückes gebunden, das zur Aufnahme der Glaskanüle bestimmt ist. Beim Aufsaugen werden die grösseren Partikelchen, welche die Kanüle verstopfen könnten, in dem Leder zurückgehalten. Diese Flüssigkeit eignet sich vorzüglich für die mikroskopische Untersuchung der Präparate. Die Farbstoffkörnchen häufen sich nämlich an der Peripherie der Gefässe an und lassen daher die Kontouren deutlich hervortreten. Ferner erhalten sich die Lymphgefässe durchsichtig, so dass ihre Lage und ihr Verhältniss zur Umgebung leicht festzustellen ist. Die Injektionsspritze ist derjenigen Gerota's nachgebildet. Wesentlich ist dabei, dass die Packung der Spritze aus Kautschuk und ihr Kolben aus Metall bestehen. Jedenfalls muss letzterer mit einer Metallplatte an der der Flüssigkeit zugekehrten Seite versehen sein; sind diese Theile aus Leder, so werden leicht Partikelchen abgerissen, welche die Kanüle verstopfen. Die Kanüle ist aus Glas. Beim Ausziehen der Kapillarröhre kommt es darauf an, sie möglichst kurz und zugleich spitz zu erhalten.

Silbernitratlösungen. Robin[114]) empfiehlt statt der Silbernitratgelatine eine Silbernitratlösung von 1 auf 400 Wasser, welche in einer schwarzen Flasche aufbewahrt wird.

Klein[79]) injicirt mit einer $^1/_2\,^0/_0$igen Silbernitratlösung, spritzt aber darauf Wasser nach, damit der entstehende Niederschlag nicht zu voluminös wird.

Die meisten Autoren, welche sich der reinen Silbernitratlösung bedienen, empfehlen eine Koncentration von $^1/_2 - ^3/_4\,^0/_0$. Nur Ranvier benutzt eine Lösung von 1 : 500, welche er in die Arterien einspritzt, um die Lymphkapillaren darzustellen. Ueber die ammoniakalische Silbernitratlösung von Hoyer siehe pag. 594.

Renaut[111]) benutzt zur Injektion der Hautlymphgefässe lösliches Berlinerblau, welches er mittels einer Pravaz'schen Spritze injicirt. Zum genaueren Studium der Lymphgefässe benutzt Renaut eine Mischung von folgender Zusammensetzung: In Wasser gelöste Pikrinsäure 4 Volumen, Ueberosmiumsäure von 1 : 100 1 Volumen; zu dieser Mischung wird vor dem jedesmaligen Gebrauche eine Silbernitratlösung von 1 : 100 in wechselnder Quantität hinzugefügt. Meistentheils genügt auf 4 Volumen der Osmium-Pikrinsäurelösung 1 Volumen Silbernitratlösung. Die Injektion wird in der gleichen Weise wie mit Berlinerblau ausgeführt. Die Präparate werden alsdann 24 oder 48 Stunden in starkem Alkohol fixirt. Die von denselben angefertigten Schnitte lassen sich in jeder Flüssigkeit färben. Die Lymphgefässe sind erweitert und die Endothelgrenzen sichtbar.

Stroganow[139]) injicirte die Lymphräume unter der Intima der Aorta in folgender Weise: Nach dem Ausschneiden des Arcus aortae wurden deren beide Enden mit Klemmpincetten verschlossen und die aus dem Arcus entspringenden Gefässe bis auf den Karotidenast des Truncus anonymus unterbunden, in welchem ein Glasrohr befestigt wurde. Durch dieses Glasrohr wurde das Aortenstück mit Injektionsmasse gefüllt. Das ganze Aortenstück mit der an ihm angebrachten Vorrichtung brachte Stroganow in eine Flasche mit weiter Oeffnung, welche er mit einem doppelt durchbohrten Stöpsel verschloss. Durch die eine Oeffnung ging das in den Karotidenast gebundene Rohr, durch die andere eine Röhre, die mit einer leeren Spritze in Verbindung stand. Wird der Spritzenkolben etwas ausgezogen, so wird die Luft in der Flasche verdünnt und die Aorta bläht sich auf. Hierdurch wird gleichzeitig Injektionsmasse in die Gefässwand eingetrieben und die Saftkanäle werden gefüllt. Nach 3—5 Stunden wird die Aorta ausgespült, in Alkohol gelegt und auf Flächenschnitten untersucht.

Litteratur: 1) Altmann (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879; und Centr. med. Wiss., 1878), 2) Aselli (De lactibus sive lacteis vasis, quanto vasorum necessariorum genere novo invento dissertatio, Milan 1627, 4°, cit. nach Burggraeve, Précis de l'hist.), 3) Asp (Arb. physiol. Anst. Leipzig, Jg. 8, 1873. Ber. Sächs. Ges. Wiss., 1874), 4) Barth, Prochaska (cit. nach Hyrtl's Zergliederungskunst), 5) Casp. Batholin (Diaphragmatis structura nova. Accessit modus novus praeparandi viscera per injectiones liquidorum, cum instrumenti novi descriptione, Parisiis 1676, cit. nach Hyrtl und Portal, III, pag. 504), 6) Bartholin T. (De lacteis thoracicis in homine brutisque nuperrime observatis historia anatomica, Copenhague 1652, 4°, cit. nach Burggraeve, Précis de l'hist.), 7) Beale (The miscroscope in medicine, IV. edition, London

1878), [8]) derselbe (How to work with the Microscope, V. edition, London 1880), [9]) Bellarminow (Anat. Anz., Bd. 3, 1888), [10]) Berengarius Carpensis (Isagogae breves, Bononiae 1522 oder Commentaria cum amplissimis additionibus supra anatomiam Mundini, Bonou 1521, cit. nach Haller, Bd. 1, pag. 168, Portal, Bd. 1, pag. 276 und Hyrtl, pag. 585), [11]) Berres (Anatomie der mikroskopischen Gebilde des menschlichen Körpers, Wien 1837), [12]) Bjeloussow (Arch. Anat., Jg. 1885), [13]) Blumenbachii introductio in historiam medicinae litterariam, Goettingae 1786), [14]) Boddaert (Verh. anat. Ges., Gent. 1897), [15]) Bogros (Quelques considérations sur la scelettopée et sur les injections, Paris 1819, 4°, cit. nach Lauth), [16]) Boheman (Anat. Anz., Bd. 10, 1894; und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), [17]) Bonnet (Kurzgefasste Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung thierischer Gewebe, München 1884), [18]) Böhm und v. Davidoff (Lehrbuch der Histologie des Menschen, 2. Aufl., Wiesbaden 1898), [19]) Bowman (Philos. Trans., 1842, cit. nach Hyrtl's Zergl., pag. 610), [20]) Brödel (Proc. Assoc. Amer. Anat., 1900), [21]) Brücke (Denkschr. k. Ak. Wiss., Bd. 2, 1851), [22]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 2, 1866), [23]) Budge (Arb. phys. Anst. Leipzig 1875), [24]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877), [25]) Carter (Dr. Carter's Carmine Injecting Fluid. Arch. of Medicine, Vol. 3, cit. nach Beale's How to work etc.), [26]) Chabry (Journ. de l'Anat. Phys., Bd. 18, 1882), [27]) Chrzonszczewsky (Virchow's Archiv, Bd. 35, 1866), [28]) Ludwig C. F. (William Cruikshank's Geschichte und Beschreibung der einsaugenden Gefässe oder Saugadern des menschlichen Körpers, Leipzig 1789), [29]) Dalla Rosa (Verhandl. anat. Ges. Pavia, 1900), [30]) Davies (The preparation and mounting of microscopic objects. II. Edition, London 1873), [31]) Dermott (Med. Times, London, Canstatt's Jahresbericht I. 1846), [32]) Dippel (Grundzüge der allgemeinen Mikroskopie, Braunschweig 1885), [33]) Disse (Arch. mikr. Anat., Bd. 36, 1890), [34]) Doherty (Microsc. News, Bd. 4, 1884 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [35]) Doyère (Compt. rend. Paris, T. 13, 1841), [36]) Eberth (Virch. Arch., Bd. 39, 1867), [37]) v. Ebner (Arch. mikr. Anat., Bd. 8, 1872), [38]) Eichler (Abh. sächs. Ges. Wiss., Bd. 18, 1892), [39]) Emery (Fauna und Flora Golf. Neapel, Bd. 2, 1880), [40]) Eternod (Guide technique du laboratoire d'histologie normale et éléments d'histologie générale, Genève-Bale-Lyon, 1886), [41]) Eustachius (Opuscula anatomica, Venetiis 1564. De renum structura, pag. 135), [42]) Fischer (Anweisung zur praktischen Zergliederungskunst. Nach Anleitung des Thomas Pole, »Anatomical Instructor«, Leipzig 1791), [43]) Fleischel (Arb. physiol. Anst. Leipzig, Jg. 9. 1874. Ber. Sächs. Ges. Wiss., 1875), [44]) Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 15, 1878), [45]) Flesch (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [46]) Fohmann (Mémoire sur les vaisseaux lymphatiques, Bonn 1840), [47]) Fol (Zeit. wiss. Zool., Bd. 38, 1883), [48]) derselbe (Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie, Leipzig 1896), [49]) Frey (Zeit. wiss. Zool., Bd. 12, 1863), [50]) derselbe (Das Mikroskop und die mikroskopische Technik, 1. Aufl., Leipzig 1863, 5. Aufl., Leipzig 1873), [51]) Friedenthal (Centr. Physiol., Bd. 13, 1899), [52]) Friedländer (Mikroskopische Technik, 5. Aufl., bearb. von Eberth, Berlin 1894), [53]) Galeni Claudii Pergameni (De anatomicis administrationibus, libri novem, Basileae 1531, L. 9), [54]) Genersich (Ber. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 22, 1870), [55]) Gerlach (Mikroskopische Studien aus dem Gebiete der menschlichen Morphologie, Erlangen 1858), [56]) Gerota (Anat. Anz., Bd. 12, 1896), [57]) Glisson (cit. nach Portal, Bd. 3, pag. 51), [58]) Griesbach (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [59]) Grosser (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 17, 1900), [60]) Gutmann (Arch. mikr. Anat., Bd. 32, 1889; und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 6, 1889), [61]) Hales (Statical essays containing haemostatics, London 1727), Dasselbe deutsch: Hämostatik oder Erfahrungen, des Blutes Bewegungen zu erforschen. Statik des Geblüts, Halle 1748), [62]) v. Haller (Bibliotheca anatomica, Tiguri 1774, 4°), [63]) Harting (Das Mikroskop. Deutsche Originalausgabe, Braunschweig 1858, 2. Aufl., 1866), [64]) Hernst (cit. nach Teichmann, das Saugadersystem), [65]) Hirschfeld (Des injections capillaires. Thèse, Paris 1848, cit. nach Robin), [66]) His (Zeit. wiss. Zool., Bd. 12, 1863), [67]) Hochstätter (Anat. Anz., Bd. 1, 1886), [68]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 15, 1898), [69]) Homberg (Hist. Acad. Roy. Sc., Paris 1699), [70]) Hoyer (Arch. mikr. Anat., Bd. 3, 1867), [71]) derselbe (Ebenda, Bd. 13, 1876), [72]) derselbe (Przyczynek do techniki histologicznej. Gazeta lekarska, Warszawa 1882), [73]) derselbe (Biol. Centr., Bd. 2, 1882), [74]) derselbe (Int. Mon. Anat Phys., Bd. 4, 1887), [75]) Hunter (Medical Commentaries, London 1740, cit. nach Strauss-Durckheim), [76]) Hyrtl (Handbuch der praktischen Zergliederungskunst, Wien 1860), [77]) derselbe (Oesterr. Zeit. pr. Heilk., 1860 und Zergliederungskunst), [78]) Joseph (57. Jahr. Schles. Ges. vaterl. Kultur, 1879), [79]) Klein, Burdon-Sanderson, Foster, Brunton (Handbook for the Physiological Laboratory edited by Burdon-Sanderson, London 1873, Histology, Vascular System by Klein), [80]) Kollmann (Zeit. wiss. Zoolog., Bd. 14, 1864), [81]) derselbe (Verh. Anat. Ges., Basel 1895), [82]) Lacaze-Duthiers (Arch. zoolog. expér., Bd. 3, 1874), [83]) Langer (Sitz. Ak. Wiss., Wien, Bd. 99, 1890), [84]) Lauth (Neues Handbuch der praktischen Anatomie, Stuttgart, Leipzig, Wien 1835—1836), [85]) derselbe (Essai sur les vaisseaux lymphatiques, Strasbourg 1824), [86]) Leber (Denkschr. Akad. Wiss., Bd. 24, Wien 1865), [87]) Lendorf (Anat. Hefte, 1901), [88]) Lieberkühn (Mém. Acad. Berlin 1748, cit. nach Hyrtl), [89]) Lo Bianco (Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. 9, 1890), [90]) Ludwig und Tomsa (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 46, 1862), [91]) Mac-Gillavry (Ebenda, Bd. 50, 1864), [92]) Mall (Johns Hopkin's Hosp. Rep., Bd. 1, 1892), [93]) Mascagni (Paul Mascagni's Geschichte und Beschreibung der einsaugenden Gefässe oder Saugadern des menschlichen Körpers, Leipzig 1789), [94]) Mayer (Mit. Zool. Stat. Neapel, Bd. 2, 1881), [95]) derselbe (Mit. Zool. Stat. Neapel, Bd. 8, 1888 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [96]) Miller (Amer. Monthly Microsc., Bd. 9, 1888; Journ. R. Microsc. Soc. 1888;

Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [97]) Monro (Abhandlungen von anatomischen Einspritzungen und Aufbewahrung anatomischer Präparate. Essays of the Med. Society at Edinburgh, 1. Jg., 1733. Deutsch Frankfurt a. M. 1789), [98]) Moseley (Arb. physiol. Anst. Leipzig, 6. Jg., 1871. Ber. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 23, 1872), [99]) Müller (Ueber den feineren Bau der Milz. Leipzig-Heidelberg 1865 und Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), [100]) Müller J. (Physiologie 1834), [101]) Nuck (Adenographia curiosa et uteri foeminei anatome nova. Lugduni Batavorum 1692), [102]) Oviatt et Sargent (Nitrite d'amyle comme vaso-dilatateur, cit. nach Lee und Mayer), [103]) v. Patruban (Arch. Anat., 1845), [104]) Pellanda (Bull. Soc. anat. Paris, 6. Série, Bd. 2, 1900), [105]) Portal (Histoire de l'Anatomie et de Chirurgie, Paris 1770), [106]) Prussak (Arb. phys. Anst. Leipzig, 3. Jg., 1868. Ber. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 20, 1869), [107]) Ranvier (Traité technique und Technisches Lehrbuch), [108]) derselbe (Compt. rend., Bd. 120, 1895), [109]) Regnerus de Graaf (Opera omnia. Lugd. 1668. De usu syphonis), [110]) Rejsek (Bibliogr. anat., 1896), [111]) Renaut (Traité d'histologie pratique, Paris 1897), [112]) Richardson (Quart. Journ. Micrsc., Bd. 8, cit. nach Beale, How to work etc. und The Microscope in Medicine), [113]) Rindfleisch (Virch. Arch., Bd. 30, 1864), [114]) Robin (Traité du microscope, Paris 1871), [115]) Rouhault (Hist. Acad. Sc., Paris 1718), [116]) Rudbeck (Dissertatio anatomica exhibens ductus novos hepaticos aquosos, et vasa glandularum serosa cum figuris aeneis et observationibus anatomicis. Westeras 1653, 4°, cit. nach Burggraeve, Précis etc.), [117]) Rusconi (Giorn. Sc. med. chir., Pavia 1841, Ann. Sc. nat. Ser. II, 17, Canstatt's Jahresbericht, 1842, pag. 168), [118]) Rutherford (Outlines of practical histology, II. Edition, London 1876), [119]) Ruysch (cit. nach Hyrtl's Zergliederungskunst und Burggraeve, Précis de l'histoire de l'anatomie, Gand 1840), [120]) derselbe (Dilucidatio valvularum in vasis lymphaticis et lacteis, Hagae Comitis 1665, cit. nach Portal, Histoire), [121]) Sabatier (Ann. sc. nat., Bd. 5, 1877), [122]) Sappey (Description et Iconographie des Vaisseaux lymphatiques, Paris 1885), [123]) Saviotti (Arch. mikr. Anat., Bd. 5, 1869), [124]) Schacher (cit. nach Hyrtl's Zergliederungskunst), [125]) Schiefferdecker (Arch. Anat., 1882), [126]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [127]) Schuberg (Zool. Anz., 1893), [128]) Schwalbe (Arb. phys. Anst. Leipzig, 7. Jg, 1872), [129]) Shaw (Anleitung zur Anatomie. Nach der 3. Ausgabe des engl. Originals übersetzt, Weimar 1823), [130]) Siebenmann (Die Blutgefässe im Labyrinthe des menschlichen Ohres, Wiesbaden 1894), [131]) Spalteholz (Abh. Sächs. Ges. Wiss., Bd. 14, 1888), [132]) derselbe (Arch. Anat., 1893 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), [133]) Stalpartii van der Wiel (Cornelii filio, De nutritione foetus exercitatio, Lugd. Batav. 1687), [134]) Stein (Virch. Arch., Bd. 39, 1867 und Das Licht im Dienste wissenschaftlicher Forschung, Leipzig 1877), [135]) Stephanus C. s. Etienne Charles (De dissectione partium corporis humani, libros tres, Parisiis 1545, pag. 345), [136]) Stilling (Virch. Arch., Bd. 109, 1887), [137]) Storch (Zeit. Thiermed., N. F., Bd. 3, 1899), [138]) Strauss-Durckheim (Traité pratique et théoretique d'anatomie comparative, Paris 1842), [139]) Stroganow (cit. nach v. Thanhoffer, das Mikroskop), [140]) Sucquet (Mém. Ac. imp. méd., Paris 1842), [141]) Sue (L'anthropotomie, ou l'art d'injecter, de disséquer et d'embaumer, Paris 1749, 1765, cit. nach Strauss-Durckheim), [142]) Swammerdam (Miraculum naturae sive uteri muliebris fabrica, Lugd. Batav. 1672), [143]) Sylvius s. Dubois (Isagoge anat., Parisi 1541, cit. nach Hyrtl), [144]) Taguchi (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, 1888 und Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [145]) Tandler (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), [146]) Teichmann (Das Saugadersystem, Leipzig 1861), [147]) derselbe (Sitz. Akad. Wiss., Krakau, Bd. 7, 1880), [148]) v. Thanhoffer (Das Mikroskop und seine Anwendung, Stuttgart 1880), [149]) Thiersch (Der Epithelialkrebs, namentlich der Haut, Leipzig 1865, auch Arch. mikr. Anat., Bd. 1, 1865), [150]) Tillmanns (Arch. mikr. Anat., Bd. 12, 1876), [151]) Toldt (Arch. mikr. Anatom., Bd. 5, 1869), [152]) Tomsa (Arch. Dermat., 1873), [153]) van Wijhe (Verh. anat. Ges. Kiel, 1898), [154]) Ville (Gaz. hebd. Sc. med., Montpellier 1882; à part, Delahaye et Legrosnier, Paris 1882, cit. nach Lee und Henneguy, Traité des méthodes), [155]) Virchow (Verh. phys.-med. Ges. Würzburg, N. F., Bd. 16, 1881 und Zeit. wiss. Zool., Bd. 35, 1881), [156]) Vogt et Yung (Traité d'anatomie comparée pratique, Paris 1888), [157]) Voigt (cit. nach Hyrtl's Zergliederungskunst), [158]) Waldeyer (Mikroskopische Anatomie der Cornea, Sklera, Lider und Conjunctiva. Handb. d. ges. Augenheilkunde von Graefe und Saemisch, Bd. 1, Leipzig 1874), [159]) Weber (Fr. Hildebrandt's Handbuch der Anatomie. Herausgegeben von E. H. Weber, Bd. 4, Vorrede, Braunschweig 1832), [160]) Werner et Feller (Vasorum lacteorum atque lymphaticorum anatomico physiologica descriptio, Lipsiae 1784), [161]) Wertheim (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 9, 1892), [162]) Wickersheimer (Kurze Anleitung zur Verwendung der Wickersheimer'schen Flüssigkeit für anatomische Präparate mit einem Anhange über Metallkorrosionen, Berlin 1892), [163]) Willis (cit. nach Portal, Bd. 3, pag. 94, Fussnote), [164]) Zondek (Arch. klin. Chir., Bd. 59, Berlin 1899), [165]) Zuckerkandl (Denkschr. Ak. Wiss. Wien, Bd. 49, 1885).

Dem Referenten nicht zugänglich gewesene Schriften:

Tulk and Henfry (Anatomical Manipulation, London 1844), Squire (Methods and Formulae used in the Preparation of animal and vegetable Tissues for microscopical Examination, London 1892), Whitman (Methods of Researches in microscopical Anatomy and Embryology, Boston 1885), Lee (The microtomist's vademecum, London 1891), Stirling (Outlines of practical histology, London 1890), Letellier (Bull. Soc. Linn. Normandie, 1888), Guignet (Journ. micrograph., Bd. 13, 1889), Garbini (Manuale per la technica moderna del

microscopio, 3. éd., Milano 1891), VAN HEURCK (Le microscope, 4. éd.. Anvers et Bruxelles 1891), ROBERTSON (Annals and Magazine of Natural Hist., 1867), SCHNEIDER, AIMÉ (Tablettes Zool. Poitiers, T. 2, 1887). *Hoyer jun.*, Krakau.

Injektion, physiologische. Anknüpfend an die klassischen Untersuchungen von WÖHLER über den Uebergang von Stoffen aus dem Darmkanal in den Harn ist die physiologische Injektion erdacht und zuerst ausgeübt worden von CHRZONSZCZEWSKY, um die Gefässverhältnisse in der Niere klarzustellen. Er injicirte dem lebenden Thiere eine Lösung von Karmin in Ammoniak und fand nach Unterbindung der Vena und Arteria renalis die Nierengefässe mit dem rothen Farbstoffe gefüllt. Es wurde also bei dieser neuen Methode im Gegensatz zu der schon seit langer Zeit geübten künstlichen Injektion nicht der Druck des Spritzenkolbens oder sonstige ähnliche, äussere Mittel zur Fortbewegung der zur injicirenden Stoffe verwendet, sondern man überliess dieselbe den natürlichen Kräften.

Ursprünglich also zum Studium der Gefässverhältnisse benutzt, erkannte man sehr bald, dass diese neue Methode sich auch sehr gut zur Darstellung anderer Hohlraumsysteme des Körpers eignete. So fand ihr Entdecker schon bei seinen ersten Versuchen, dass der Farbstoff sehr bald aus den Blutgefässen in die Parenchymzellen übertrat und in die Nierenkanälchen ausgeschieden wurde und er konnte so nach Unterbindung des Ureters eine vollständige Injektion jener Kanälchen erzielen.

Später traten dann an die Stelle des karminsauren Ammoniaks geeignetere Farbstoffe und die Methode gewann eine sehr vielseitige Verbreitung. CHRZONSZCZEWSKY selbst injicirte mit ihr das System der Gallenkapillaren, ARNOLD und seine Schüler haben ausgedehnte Versuche mit der physiologischen Injektion angestellt und gezeigt, dass man mit ihr in ausgezeichneter Weise die Kittsubstanzen an den verschiedenen Stellen des Körpers darstellen kann (ARNOLD, THOMA, KÜTTNER, ZELLER). Die grösste Bedeutung aber gewann die Methode durch die Untersuchungen RUDOLF HEIDENHAIN'S über die Ausscheidung des Farbstoffs in den Nieren. Später ist dann auch die Methode in der Physiologie der Speicheldrüsen nutzbringend verwendet worden (ZERNER, ECKHARD, KRAUSE).

Was zunächst diejenigen Farbstoffe anbetrifft, welche für die physiologische Injektion in Betracht kommen, so dürfen sie selbstverständlich keine allzu giftigen Eigenschaften besitzen, da das Leben des Thieres während des Versuches immerhin eine gewisse Zeit lang erhalten bleiben muss. Ausserdem soll der Farbstoff auch eine möglichst markante Färbung besitzen, um im Präparat leicht erkannt zu werden. Entweder benutzt man zur Injektion echte Lösungen oder Aufschwemmungen, welche den Farbstoff in sehr fein vertheilter Form enthalten. Den weitaus grössten Werth für die physiologische Injektion besitzt das indigschwefelsaure Natron, ferner kommen in Betracht Derivate des Karmins, die Karminsäure, das karminsaure Natron und karminsaure Ammoniak, schliesslich eine Anzahl von Ailinfarbstoffen. Zu Farbstoffaufschwemmungen bedient man sich des Karmins, Zinnobers und der chinesischen Tusche. In dem Folgenden soll diesen Farbstoffen von unserem Standpunkt aus etwas näher getreten werden.

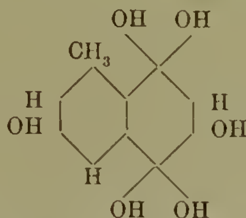
Indigschwefelsaures Natron. Löst man gepulverten Indigo in koncentrirter Schwefelsäure, so erhält man eine schöne blaue Lösung, welche drei gepaarte Schwefelsäuren des Indigos enthält: die Indigoblauschwefelsäure, Indigblauunterschwefelsäure und die Phoenicinschwefelsäure. Will man die erstere, die uns hier allein interessirt, isoliren, so löst man 1 Theil besten gepulverten Indigos in 6 Theilen rauchender oder 12 Theilen englischer Schwefelsäure in gelinder Wärme, lässt dann das mit Blase verschlossene Gefäss 2—3 Tage bei Zimmertemperatur und unter öfterem

Umschütteln stehen und verdünnt mit viel Wasser. Trägt man in die filtrirte Lösung gereinigte Wolle ein, so absorbirt dieselbe die Indigblauschwefelsäure und Indigblauunterschwefelsäure, während die Phoenicinschwefelsäure zurückbleibt. Die gefärbte Wolle wird mit verdünntem kohlensauren Ammoniak behandelt, wobei die Ammoniaksalze der beiden Säuren in Lösung gehen. Die Lösung wird nun bei 50° eingedampft und der Trockenrückstand mit Alkohol behandelt. Es löst sich dann das indigblauunterschwefelsaure Ammoniak, während das indigblauschwefelsaure Ammoniak zurückbleibt. Aus dem letzteren erhält man die reine Säure, indem man mit essigsaurem Blei ausfällt, den ausgewaschenen Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die zuerst farblose, später blau werdende Flüssigkeit vorsichtig eindampft. Die trockene Säure hat die Formel $C_{16} H_8 (SO_3 H)_2 N_2 O_2$, sie stellt ein schwarzblaues Pulver dar, ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, leicht reducirbar und bei höherer Temperatur zersetzlich. Bei der Reduktion geht sie in Indigweiss, bei der Oxydation mittels Chromsäure in die gelbe Isatinschwefelsäure über. Die Salze der Indigblauschwefelsäure sind dunkelblau mit leichtem Kupferglanz, sie sind leicht löslich in Wasser und im Gegensatz zu den Salzen der Indigblauunterschwefelsäure unlöslich in Alkohol. Sie werden durch reducirende Körper bei Gegenwart von freiem Alkali leicht entfärbt. Das Bleisalz der Säure ist in Wasser unlöslich.

Das im Handel vorkommende Indigkarmin, blauer Karmin, Indigo soluble stellt das Kali- oder Natronsalz der Indigblauschwefelsäure dar, verunreinigt mit den entsprechenden Salzen der Indigblauunterschwefelsäure und Phoenicinschwefelsäure. Es ist für unsere Zwecke ganz untauglich, da es in Alkohol zum Theil löslich ist. Das allein brauchbare indigblauschwefelsaure Natron wird erhalten durch Ausfällen der Lösung der Säure mit Soda und durch Auswaschen, Abpressen, Lösen in Wasser und Aussalzen gereinigt. Es ist in Wasser ziemlich leicht, in absolutem Alkohol gänzlich unlöslich. Durch kalt gesättigte Lösung von Chlorkalium wird es ausgefällt. In der Wollfärberei wird es durch Alaun oder Chlorbaryum und Weinstein oder Zinnlösung auf der Faser fixirt, wobei das Thonerde-, Baryt- oder Zinnsalz der Indigblauschwefelsäure entsteht. In vorzüglicher Reinheit ist das indigschwefelsaure Natron durch die Neumarkt-Apotheke in Breslau zu beziehen (theuer).

Zur Fällung des indigschwefelsauren Natrons in den Organen hat Chrzonszczewsky konc. wässerige Lösung von Chlorkalium, Wittich eine solche von Chlorcalcium und Heidenhain absoluten Alkohol empfohlen. Wir haben uns in unseren sehr zahlreichen Versuchen fast ausschliesslich des letzteren bedient. Man kann den Alkohol zur Erhöhung der fällenden Wirkung noch mit Bleiacetat sättigen.

Die Karminsäure hat nach den Untersuchungen von Miller und Rhode die Formel:



Sie ist ein Oxynaphtochinon und stellt eine rothe amorphe Masse dar, welche in Wasser und Alkohol, in letzterem aber schwieriger löslich, sehr wenig in Aether und ganz unlöslich in Benzol und Chloroform ist. Ihre wässerige Lösung reagirt schwach sauer. In neuester Zeit ist sie von Schunck und Marchlewski und von Miller und Rhode chemisch rein dargestellt worden. Ihre Alkalisalze sind in Wasser löslich, in Alkohol weniger oder gar

nicht löslich, ihre Erd- und Schwermetallsalze dagegen in Wasser unlöslich. Die ersteren bilden rothe, die letzteren violette, amorphe Körper.

Die Karminsäure und ihre Salze sind unseres Wissens bis jetzt zur physiologischen Injektion überhaupt noch nicht verwendet worden. Das, was man als karminsaures Ammoniak und karminsaures Natron bezeichnet, ist eine Lösung von Karmin in Ammoniak, resp. Natronlauge.

Das sogen. karminsaure Ammoniak ist zur physiologischen Injektion, wie schon erwähnt, von Chrzonszczewsky zuerst empfohlen worden. Er löst 2 Drachmen (ungefähr 7,3 Grm.) Karmin in 1 Drachme (3,65 Grm.) Ammoniak und verdünnt mit 1 Unze (29,2 Grm.) destillirten Wassers. Verfährt man auf diese Weise, so wird man trotz sorgfältigsten Filtrirens niemals eine klare Lösung erhalten, da, wie Schmidt treffend bemerkt, in dieser Lösung viel zu viel Karmin enthalten ist. Um eine klare Lösung zur erhalten, müsste man Ammoniak im Ueberschuss nehmen, was aber von den Versuchsthieren schlecht vertragen wird. In der von Chrzonszczewsky vorgeschlagenen Form wird die Injektionsflüssigkeit von den Thieren in kleineren Quantitäten (20—30 Grm.) meistens gut vertragen und auch prompt ausgeschieden. Vögel scheinen dagegen empfindlicher zu sein als Säugethiere (von Wittich). Bei den ersteren stellt sich nach der Injektion Asphyxie ein, die man aber durch künstliche Respiration leicht beseitigen kann. An Stelle des Ammoniakkarmins hat Schmidt Lösungen von Karmin in Natronlauge, Lithiumkarbonat oder Borax vorgeschlagen. Das erstere ist unter dem Namen karminsaures Natron in vorzüglicher Reinheit von Maschke dargestellt worden (zu beziehen durch die oben genannte Apotheke in Breslau). Es ist ein dunkelrothes, in Wasser leicht lösliches Pulver, das aus seinen wässerigen Lösungen durch Säuren oder Alkohol ausgefällt wird. Zur Fixation empfiehlt sich entweder das Carnoy'sche Alkohol-Chloroform-Eisessiggemisch oder die Fixation nach Kronthal (siehe Alkohol) oder reiner absoluter Alkohol. Schmidt empfiehlt auch Fixation in kochendem Wasser.

Von Anilinfarbstoffen haben bis jetzt nur wenige zur physiologischen Injektion Verwendung gefunden, abgesehen natürlich von der nicht hierher gehörigen vitalen Methylenblaufärbung und den zu anderen Zwecken angestellten Versuchen Ehrlich's. Es liegt das wohl einmal daran, dass eine grosse Zahl der Anilinfarbstoffe für solche Versuche zu stark giftige Eigenschaften besitzt, dann lassen sich die meisten derselben durch für unsere histologischen Zwecke brauchbare Fixationsmittel nur schwer fixiren, der Hauptübelstand aber liegt darin, dass sie bei der Injektion in die Gefässe die Gewebe diffus färben, wenigstens in ihrer grossen Mehrzahl. Von Anilinfarbstoffen haben gelegentlich für unsere Zwecke Verwendung gefunden: Fuchsin, Anilinblau, Bismarckbraun, Alizarin, Eosin und andere.

Resumiren wir also noch einmal, so bleibt als weitaus wichtigster Farbstoff das indigschwefelsaure Natron übrig; über die Verwendbarkeit der Karminsäure und ihrer Salze, des Natronkarmins und der Anilinfarben für die physiologische Injektion müssen noch weitere Versuche angestellt werden.

Um den Farbstoff dem Blute einzuverleiben, kann man ihn entweder direkt oder indirekt in die Blutgefässe bringen. Das erstere Verfahren wird man, wenn irgend möglich, immer bevorzugen. Allein in manchen Fällen ist es nicht möglich oder doch nur mit grossen Schwierigkeiten verbunden. In solchen Fällen kann man dann die verschiedensten Wege wählen.

Das bequemste wird immer die subkutane Einführung bleiben; man spritzt den Thieren die Farbstofflösung unter die Haut oder bringt ihnen auch kleine Mengen des trockenen Farbstoffs unter dieselbe. Das letztere ist besonders bequem beim Frosche: man legt einen kleinen Hautschnitt am Rücken an, bringt etwas trockenes indigschwefelsaures Natron in den

Lymphsack und verklebt oder vernäht die kleine Wunde. Die Resorption findet ziemlich langsam statt, die Lymphflüssigkeit löst allmählich den trockenen Farbstoff und es gelangen so nach und nach geringe Mengen in die Blutbahn.

Viel rascher geht die Injektion von der Bauchhöhle aus, dieses Verfahren eignet sich besonders für Säugethiere. Am besten fixirt man das Thier so, dass der Oberkörper tief liegt, die Eingeweide sinken dann auf das Zwerchfell zu und man kann zwischen Nabel und Symphyse die Spritzenkanüle einstechen, ohne eine Verletzung des Darms befürchten zu müssen. Da die Thiere dabei meistens stark die Bauchmuskeln kontrahiren, thut man gut, sie schwach zu narkotisiren. Sollen die Versuchsthiere längere Zeit am Leben erhalten werden, so muss die Injektionsflüssigkeit sterilisirt und die kleine Operation aseptisch ausgeführt werden.

Mindestens ebenso rasch als vom Peritoneum aus findet die Resorption von der Lunge her statt. Man kann einem grossen Kaninchen über 30 Ccm. in die Lungen bringen, ohne dass irgendwie bedrohliche Erscheinungen auftreten, nur muss man die Flüssigkeit möglichst langsam, am besten durch eine Trachealkanüle einfliessen lassen.

Weniger gut ist die Einführung in den Verdauungskanal, da die meisten der hier in Frage kommenden Farbstoffe durch die Säure des Magens verändert oder ausgefällt werden. Gute Resultate haben wir in einzelnen Fällen bei Fischen durch die Injektion der Farblösung von dem Rektum aus erhalten.

In den weitaus meisten Fällen aber wird man die Farblösung direkt in ein Blutgefäss, selbstverständlich in eine Vene, injiciren. Von solchen Venen kommen bei Säugethieren hauptsächlich in Betracht die Vena jugularis, Vena femoralis, die Ohrvene beim Kaninchen, bei Vögeln die Vena jugularis, bei Amphibien die Vena abdominalis. Im allgemeinen gilt als Regel, dass man möglichst weit peripher injiciren soll, um dem Farbstoff mehr Zeit zu lassen, sich auf dem Weg zum Herzen mit Blut zu mischen. Anderenfalls können bei Injektionen von grösseren Flüssigkeitsmengen vom Herzen aus bedrohliche Erscheinungen auftreten. Wir ziehen deshalb, wenn nicht andere Erwägungen dagegen sprechen, die Vena femoralis der Vena jugularis vor. Sie ist bei Thieren bis zum Kaninchen oder Meerschweinchen herab gross genug, um der Einführung einer Kanüle keine grösseren Schwierigkeiten entgegenzusetzen.

Die Ohrvene ist beim Kaninchen besonders dann bequem, wenn es sich um eine einmalige Einführung des Farbstoffs handelt. Die Operation wird so ausgeführt, dass ein Diener den Körper des Thieres zwischen seinen Schenkeln fixirt, dann wird ein Ohr mittels eines mit warmem Wasser getränkten Wattebausches etwas gerieben und an seiner Wurzel komprimirt. Es springt dann die Ohrvene sehr bald als dicker Strang hervor. Der Operateur fasst das Ohr an der Spitze und führt die mit etwas physiologischer Kochsalzlösung gefüllte Spritze in das Gefäss, die Spitze central gerichtet, ein. Wird nun die Kompression einen Moment unterbrochen, so strömt das Blut in die Spritze ein und überzeugt den Operateur so, dass die Kanüle auch wirklich im Gefässlumen liegt. Nun wird die Spritze von der Kanüle abgenommen, mit Farbstoff gefüllt, wieder aufgesetzt und injicirt; bei letzterer Operation muss natürlich die Kompression aufhören. Man kann auf diese Weise ziemlich beträchtliche Mengen injiciren. Ist die Injektion beendet, so wird die Kanüle langsam zurückgezogen und der Diener kneift an der Injektionsstelle die Vene mit dem Daumennagel kräftig ein. Es schliesst sich so das Gefäss, ohne dass ein Tropfen Blut oder Injektionsflüssigkeit verloren geht. Die kleine Operation stellt allerdings an die Geschicklichkeit des Dieners grössere Anforderungen als an die des Ope-

rateurs. Die Spritzenkanüle muss aus Metall gefertigt sein, sie soll ferner möglichst scharf schneidend sein und darf keine allzu lange Spitze haben.

Im folgenden soll noch etwas näher auf die Technik der Injektion in die Vena femoralis eingegangen werden. Bei dem entsprechend narkotisirten (vergleiche Artikel Narkose) und aufgebundenen Thier legt man entlang der Arteria femoralis (man fühlt das kräftig pulsirende Gefäss leicht durch die Haut durch), dicht unterhalb des POUPART'schen Bandes beginnend einen mehrere Centimeter langen Schnitt an. Nachdem man die Fascie gespalten hat, kommen die beiden Gefässe, Arterie und Vene, dicht nebeneinander, die letztere meist etwas nach innen und hinter der ersteren versteckt, zum Vorschein. Es wird nun die Vene mittels zwei Pincetten stumpf auf eine Strecke von 1—2 Cm. von der Arterie isolirt und zwei Seidenfäden mit einer gekrümmten Pincette um sie gelegt. Der eine, am peripheren Ende der isolirten Strecke gelegen, wird fest zugeschnürt, der andere nur zu einer weiten Schlinge geschürzt, liegt am centralen Ende der isolirten Strecke. Er wird vom Assistenten gehalten und leicht angezogen. Nun wird mit einer spitzen Schere mit langen, dünnen Branchen die Gefässewand leicht angeschnitten, in das entstandene Loch die eine Branche der geöffneten Schere eingeführt und die Gefässwand in der Länge eines halben Centimeters geschlitzt. Man schneide das Gefäss zunächst nicht zu tief ein, da die dünne Venenwand sonst leicht reisst. Wird während dieser Operation die centrale Schlinge vom Assistenten etwas angezogen, so fliesst kaum ein Tropfen Blut. In die angelegte Oeffnung wird nun die vorher mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllte und mit Schlauch und Hahn oder Klemme geschlossene Kanüle eingeführt. Dabei lässt der Assistent die Schlinge etwas locker, die Kanüle schlüpft über die letztere in das Gefäss und wird durch Zuziehen des Schlinge fixirt.

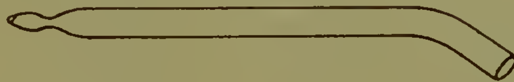
Sind die Venen sehr eng und vor allem sehr dünnwandig, wie bei jungen Kaninchen und Meerschweinchen, so kann die Einführung der Kanüle erhebliche Schwierigkeiten bieten. Indem man nämlich die Vene anschneidet, klappen ihre Wandungen zusammen und Oeffnung ist dann nur sehr schwer zu finden. Man benutzt dann am besten einen sogenannten Finder, eine leicht gekrümmte, dünne Sonde, die ganz glatt und stumpf sein muss, suche damit zunächst in das Lumen hineinzugelangen und die Wundlippen etwas auseinanderzulegen. Hat man sich so genau über die Lage der Oeffnung orientirt, so wird die Einführung der Kanüle leichter gelingen. Ein anderer kleiner Kunstgriff besteht darin, dass der Assistent die Schlinge etwas locker lässt, es strömt dann aus dem centralen Ende der Vene etwas Blut aus und lässt die Oeffnung leichter erkennen. Das Wichtigste aber bleibt: von Anfang an das Gefäss gut isoliren und richtig anschneiden.

Beim Frosch kann man entweder nach Längsdurchtrennung der äusseren Haut die immer genau in der Mittellinie des Bauches subperitoneal verlaufende Vene von aussen blosslegen, oder man schlägt folgendes Verfahren ein. Dicht oberhalb der Spina pelvis wird nach Spaltung der äusseren Haut mit einer krummen Nadel ein doppelter Seidenfaden durch die mit einer Pincette etwas angehobene Bauchwand gelegt, so dass die Einstichöffnung auf der linken, die Ausstichöffnung auf der rechten Seite der Mittellinie liegt. Der Faden wird am Nadelöhr durchschnitten, beide Fäden geknotet und zwischen beiden in einer Ausdehnung vom 1 Cm. die Bauchwand quer durchschnitten. Man kann nun nachdem man die Bachwand rechts neben der Mittellinie noch eine Strecke weit längsgespalten hat, die letztere umklappen und sieht dann die ziemlich starke Vene vor sich liegen. Es wird nun weiter central ebenfalls mit einer krummen Nadel ein Seidenfaden um das Gefäss gelegt und die Kanüle in der beschriebenen Weise eingebunden.

Bei Vögeln wählt man am besten die rechte Vena jugularis, die am Hals dicht unter der Haut leicht zu finden ist, bei Fischen die Vena cardinalis anterior.

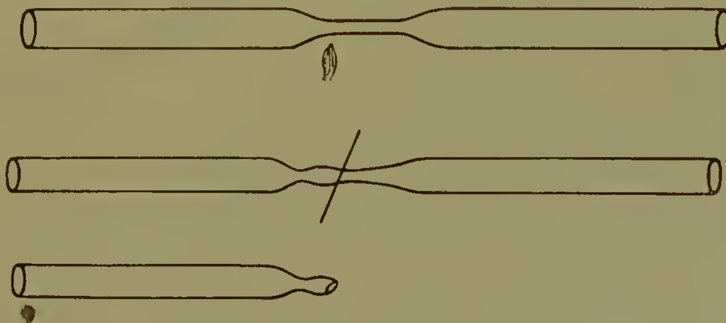
Die Kanülen, welche man zu allen diesen Versuchen benutzt, fertigt man sich am besten selbst aus verschieden dicken, nicht zu starkwandigen Glasrohren an. Eine gute Kanüle soll eine etwas abgeschrägte, ganz glatt geknöpfte Spitze besitzen, wie nebenstehende Fig. 49 zeigt. Die Dicke des Knopfes muss sich natürlich richten nach der Weite des zu benutzenden Gefässes, für einen kleineren Hund etwa 2 Mm., für Kaninchen 1—1,5 Mm., für den Frosch höchstens 1 Mm. Der Knopf soll zugespitzt, aber nicht zu lang sein. Die Ränder der Oeffnung müssen sorgfältig abgeschliffen oder abgeschmolzen sein, um ein Durchstossen oder Aufreissen der dünnen Venenwand zu vermeiden.

Fig. 49.



Zur Herstellung der Kanülen bedient man sich am besten eines kleinen Mikronbrenners, je feiner die Kanüle werden soll, desto kleiner muss die Flamme sein. Zuerst wird das Rohr unter beständigem Rotiren in der Mitte erhitzt und wenn es weich geworden, ausgezogen (Fig. 50), dann, wie Fig. 50 zeigt, etwas diesseits der Mitte und ebenfalls unter beständigem Rotiren wiederum, aber mit möglichst kleiner Flamme vorsichtig erhitzt und zu dem Knopf ausgezogen, dann mit der Glasfeile oder dem Glasmesser abgeschnitten (Fig. 51) und auf einem Abziehstein vorsichtig schräg abgeschliffen. Zum Schlusse kann man die abgeschliffene Oeffnung dadurch, dass man sie vorsichtig der Flamme des Mikronbrenners nähert, noch abschmelzen.

Fig. 50.



Die Kanüle verbindet man am besten mittels eines starkwandigen Kautschukschlauches mit einem Glashahn, an dessen anderem Ende ein zweites Schlauchstück die Verbindung mit der Bürette vermittelt. An die Stelle des Glashahns kann auch ein metallener Quetschhahn treten.

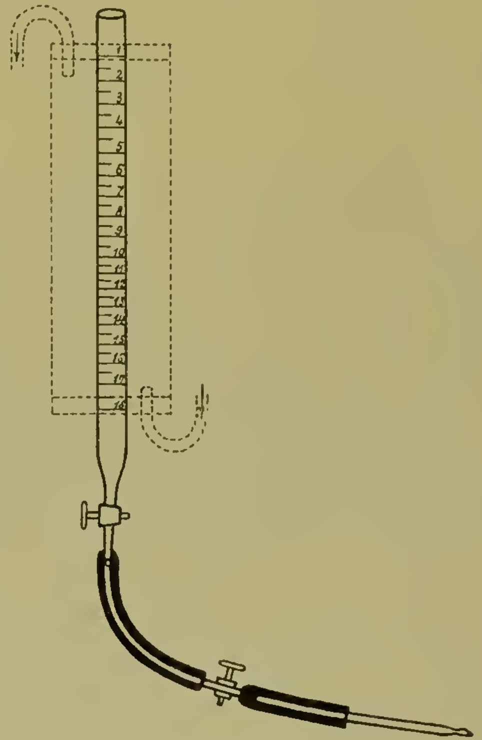
Als Reservoir für die zu injicirende Farblösung dient eine graduirte, mit Hahn versehene Bürette. Soll die Flüssigkeit körperwarm injicirt werden, so umgiebt man dieselbe mit einem weiten, mit warmem Wasser zu füllenden und mit unterem Zu- und oberem Ablauf versehenen Glascylinder.

Die Versuchsanordnung gestaltet sich dann folgendermassen. Zunächst wird die in einem Stativ befestigte Bürette mit warmer, sorgfältig filtrirter

Farblösung gefüllt, dann die Kanüle inklusive Gummischläuche und Glashahn mit physiologischer Kochsalzlösung vollgesaugt und der Hahn geschlossen. Die Vene wird präparirt, die Kanüle eingeführt und eingebunden und der Schlauch über die Spitze der Bürette gestreift, wobei man möglichst den Einschluss von Luftblasen vermeiden soll. Einige kleine Luftbläschen schaden übrigens nicht. Nun wird zuerst der Kanülen-, dann der Bürettenhahn geöffnet und die Flüssigkeit kann frei in das Gefäss einfliessen. Es soll nicht zu lange Zeit zwischen dem Einbinden der Kanüle und dem Oeffnen der Hähne vergehen, da sich sonst leicht Gerinsel an der Einbindungsstelle bilden.

Die Menge der zu injicirenden Flüssigkeit richtet sich einmal nach der Grösse des Thieres, dann nach dem Zweck, den man verfolgt, und schliesslich nach der Art des zu injicirenden Farbstoffes.

Fig. 51.



Für die Injektion der Gallenkapillaren wählt man am besten Thiere mit möglichst konsistenter Galle, also Fleischfresser, wie Hund und Katze, von Vögeln liefern Krähen die besten Resultate. Man injicire möglichst viel Farbstoff, bei kleineren Hunden z. B. alle 10 Minuten 15 bis 20 Ccm. einer koncentrirten Lösung von indigschwefelsaurem Natron und tödte das Thier nach 1—2 Stunden. Hier kann man auch ganz zweckmässig als Ort der Injektion eine Mesenterialvene wählen, der Farbstoff erscheint dann schon nach wenigen Minuten in der Galle. Sofort nach dem Tod werden kleine Stückchen der Leber in einem grösseren Gefäss mit absolutem Alkohol aufgehängt, oder die Leber wird von der Aorta aus mit absolutem Alkohol injicirt. Beim Frosch bringt man zu dem gleichen Zweck eine Messerspitze des trockenen Farbstoffs in den Rückenlymphsack, vernäht die kleine Wunde und tödtet das Thier am nächsten Tag. Zur Füllung der Nierenkanälchen genügen weit kleinere Mengen, für ein Kaninchen 20—40 Ccm. Nach Tödtung des Thieres spritzt man von der Art. renalis aus die Niere mit absolutem Alkohol oder noch besser mit dem CARNOY'schen Fixationsgemisch aus.

Die Ausscheidung in den Speicheldrüsen begegnet grösseren Schwierigkeiten, giebt aber, wenn sie gelingt, ausserordentlich interessante Bilder. Am besten eignen sich Hunde. Man injicire grosse Mengen, alle 15 Minuten 50 Ccm. der koncentrirten Farblösung. Reizung der Absonderungsnerven ist überflüssig, da die Thiere auch ohnedies reichlich speicheln. Nach 2—3 Stunden kann man das Thier tödten.

Man hat die Methode der physiologischen Injektion dann auch für das Studium der Exkretionsorgane der Wirbellosen herangezogen.

So hat SCHINDLER bei den Insekten in den MALPIGHI'schen Gefässen, SOLGER bei den Cephalopoden in den Venenanhängen Ausscheidung von Indigkarmin erhalten. Später sind dann diese Versuche in ausgedehnterem Masse von KOWALEVSKY und CUÉNOT wieder aufgenommen und fast auf alle

Klassen der Wirbellosen ausgedehnt worden. Die Farbstoffe, es handelte sich um Ammoniakkarmin, indigschwefelsaures Natron, Lackmus und Bismarckbraun, wurden entweder in die Leibeshöhle der Thiere eingespritzt, oder die Thiere wurden mit den Farbstoffen gefüttert. Bei Cephalopoden kann man, wie wir das selbst gethan haben, auch die Farbstofflösung mittels einer T-Kanüle in die Aorta einspritzen, bei Crustaceen empfiehlt es sich, die Lösung auf die freigelegten venösen Ostien des Herzens aufzutropfen.

Litteratur: Chrzonszczewski (Virch. Arch., Bd. 31 u. 35, 1864 u. 66), Arnold (Virch. Arch., Bd. 66 u. 73, 1876 u. 78), Thoma (ebenda, Bd. 64, 1875), Küttner (ebenda, Bd. 66, 1876), Zeller (ebenda, Bd. 73, 1878), R. Heidenhain (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), derselbe (Pflüger's Arch., Bd. 9, 1875), derselbe (in Hermann, Handbuch der Physiologie, Bd. 5), Zerner (Wien. med. Jahrb., N. F., Bd. 1, 1886), Eckhard (Fest. f. Ludwig), R. Krause (Arch. mikr. Anat., Bd. 49 u. 59, 1897 u. 1901), Kabrhel (Wiener med. Jahrb., N. F., Bd. 1, 1886), v. Wittich (Arch. mikr. Anat., Bd. 11, 1875), Miller und Rhode (Ber. deutsch. chem. Ges. 26. Jahrg., Bd. 3, 1893), Schunck u. Marchlewski (ebenda, 27. Jahrg., 1894), Schmidt (Pflüger's Arch., Bd. 48, 1891), A. Kowalevsky (Biolog. Centr., Bd. 9, 1889), derselbe (Bull. Ac. imp. St. Pétersbourg, Bd. 13, 1894), Solger (Zool. Anz., Bd. 4, 1881), Cuénot (Arch. Biol., Bd. 16, 1900), derselbe (Compt. rend., Bd. 119, 1894), Schindler (Zeit. wiss. Zool., Bd. 30, 1878).

Insekten siehe Arthropoden.

Integument siehe Haut.

Intercellularbrücken und **-lücken.** Zur Darstellung der wirklichen und vermeintlichen Intercellularbrücken ist vor allem die Eisenhämatoxylinmethode nach Fixation in Sublimat geeignet. Von anderer Seite sind noch empfohlen worden die Golgimethode, die van Gieson'sche Färbung und die Weigert'sche Fibrinmethode. In letzter Zeit hat Kolossow eine Methode ausgearbeitet, mittels deren es gelingt, Zellbrücken in allen möglichen Epithelien und Drüsen nachzuweisen. Er setzt der zur Fixation verwendeten Lösung eine grössere Menge eines Neutralsalzes zu und bringt dadurch die Zellen zum Schrumpfen. Die Fixationslösung muss in das Gefässsystem des zu untersuchenden Organs eingeführt werden, und zwar soll man so lange injiciren, bis die Oberfläche gleichmässig dunkel erscheint. Die Lösung besteht aus 100 Ccm. 5%iger wässeriger Osmiumsäure, 0,5—1 Ccm. 30%iger Salpetersäure, 1 Ccm. Eisessig und 10—12 Grm. Kalium nitricum. Diese Lösung wird innerhalb 2—3 Minuten injicirt, dann werden kleine Stückchen des injicirten Organs für 16—24 Stunden in 0,5%ige wässerige Osmiumsäure eingelegt. Am nächsten Tag kommen die Stücke in 10%ige wässerige Tanninlösung, die innerhalb der folgenden 24 Stunden so oft gewechselt wird, als sie sich noch dunkel färbt. Nun wird in Wasser ausgewaschen, in Alkohol entwässert und in Paraffin eingebettet. Die Schnitte sollen sehr dünn (2—3 μ) sein und brauchen nicht weiter gefärbt zu werden.

Man kann die Intercellularlücken auch durch Injektion füllen, und zwar entweder durch Einstichinjektion oder aber durch Injektion von indigschwefelsaurem Natron in das Gefässsystem des lebenden Thieres.

Die die Intercellularlücken nach aussen, respektive nach dem Lumen zu abschliessenden Kittleisten werden am besten mit der Eisenhämatoxylinmethode zur Ansicht gebracht.

Litteratur: Kolossow (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), Th. Cohn (Anat. Hefte, 15, 1895), Barfurth (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), Boheman (Anat. Anz., Bd. 10, 1895), Werner (Inaug.-Diss., Jurjew 1894), Schaffer (Anat. Anz., Bd. 15, 1898), Hoehl (Anat. Anz., Bd. 14, 1897).

Intercellularsubstanzen pflanzlicher Zellen siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Interferenzfarben siehe Polarisationsmikroskop.

Intermedien. Als Intermedien sind von MAYER alle diejenigen chemischen Agentien bezeichnet worden, welche entweder dazu dienen, zu mikrotomirende Objekte aus dem Entwässerungsalkohol in das Einbettungsmittel (Paraffin oder Celloidin) oder die fertigen Schnitte aus dem Entwässerungsalkohol in das definitive Einschlussmittel überzuführen. Ein solches Intermedium muss sich also einmal mit absolutem Alkohol mischen und zweitens ein möglichst gutes Solvens für das Einbettungs-, respektive Einschlussmittel sein.

Betrachten wir zunächst die Intermedien für Paraffin, so kommen hier in Betracht das wie das letztere selbst der Sumpfgasreihe angehörige Benzin und Petroleumäther, das Chloroform, das Benzol und seine Derivate (Anilin, Xylol, Toluol), die ätherischen Oele (Terpentinöl, Bergamottöl, Cedernholzöl und andere), ausserdem noch der Schwefelkohlenstoff. Sie alle sind mit absolutem Alkohol klar mischbar, in Bezug auf ihre Lösungsfähigkeit für Paraffin aber zeigen sie grosse Differenzen. Am leichtesten wird das letztere gelöst von Schwefelkohlenstoff und den Kohlenwasserstoffen der Sumpfgasreihe, dann folgen das Chloroform und die Benzolverwandten und an letzter Stelle stehen die ätherischen Oele. Folgende Reihe giebt darüber näheren Aufschluss: Es löst sich Paraffin von 58° Schmelzpunkt bei 20° in Schwefelkohlenstoff zu 16—18%, in Benzin und Petroleumäther zu 14—15%, in Xylol zu 12%, in Chloroform zu 11%, in Toluol zu 10%, in Benzol zu 8%, in Cedernholzöl, Thymianöl und Origanumöl zu ungefähr 6%, in Bergamottöl zu 2—3%.

Von diesen Intermedien werden also die ätherischen Oele wegen ihrer geringen Lösungsfähigkeit für die Paraffineinbettung weniger in Frage kommen, am meisten empfehlen sich das Chloroform, das Benzol und seine Derivate und der Petroleumäther. Der Schwefelkohlenstoff ist in neuester Zeit von M. HEIDENHAIN als Intermedium sehr gerühmt worden. (Näheres siehe Paraffineinbettung.) Manche Intermedien machen bindegewebsreiche Organe sehr hart, das gilt vor allem von dem früher sehr viel benutzten Terpentin und in geringerem Grade auch von Xylol.

Zur Celloidineinbettung benöthigt man überhaupt kein Intermedium, man kann gleich aus dem absoluten Alkohol in die Celloidinlösung überführen, eventuell auch noch eine Mischung von gleichen Theilen Alkohol und Aether einschalten.

Als Intermedien für den definitiven Einschluss der Schnitte in Harze, wie Kanadabalsam, Dammarharz oder Kolophonium kommt vor allem das Xylol, daneben aber auch Chloroform und Benzin in Betracht. Terpentin sollte man ganz vermeiden, da es den meisten Färbungen schädlich ist.

Intravitale Färbung pflanzlicher Zellen.

Unter dem Namen der Lebendfärbung werden die Erscheinung der Aufnahme und Speicherung von Anilinfarben aus sehr verdünnten Lösungen in der Zelle zusammengefasst, ohne dass sie eine Färbung im eigentlichen Sinne darstellen, vielmehr werden die Farbstoffe ähnlich einer Reihe anderer in sehr verdünnter Lösung unschädlicher Stoffe, zumal Ammonkarbonat, Antipyrin und Coffeïn durch gewisse in der Zelle enthaltene Stoffe, vornehmlich Gerbstoff, Phloroglucin im Plasma oder Zellsaft zur Ausfällung gebracht und kann auf diese Weise eine ganze Menge gespeichert werden. So hat sich diese Methode als sehr fruchtbar, mehr für das Studium der diosmotischen Eigenschaften der Zelle als zur Kenntlichmachung bestimmter Zellbestandtheile erwiesen, wie auch die Versuche, die Zellen lebend zu färben (z. B. Kerntheilung in Tradescantiahaaren mit Methylviolett, Dahlia und Mauveïn aus 0,001—0,002%iger Lösung [CAMPBELL]), zu wesentlichen Resultaten nicht geführt haben und wahrscheinlich erst in absterben-

den Zellen stattfindet (dagegen Lebendfärbung der Stachelkugeln der Nitellen s. unter Characeen). Alle Lebendfärbungen haben in Anbetracht der sehr schwachen Lösungen in sehr viel Flüssigkeit, $^1/_2$—1 Liter zu geschehen. Eine Aufnahme wurde bisher nachgewiesen für Methylenblau, Methylviolett, Cyanin, Bismarckbraun, Fuchsin, Safranin, Methylorange, Tropaeolin 000, Methylgrün, Jodgrün, HOFFMANN's Violett, Gentianaviolett, Rosalinsäure, Chrysolin, ein negatives Resultat wurde erhalten mit Nigrosin, Anilinblau, Methylblau, Marineblau, Anilingrau, Eosin und Kongoroth (Farbstoffe von Dr. SCHUCHARDT und von Dr. GRÜBLER, Methylenblau aus der Badischen Anilin- und Sodafabrik), ebenso wie mit Alizarin, Hämatoxylin, Brasilin, Pikrinsäure, Karminsäure und Karmin in etwas Kali. Alle aufgenommenen Farbstoffe werden mit Ausnahme der Rosolsäure und mit Ausnahme von Methylenblau im Cytoplasma gespeichert (citirt nach STRASBURGER, G. bot. Prakt., 1897), Methylorange kann in 0,01%iger Lösung auch zur Prüfung auf die alkalische oder saure Reaktion in der Zelle verwendet werden, da bei Säuren eine scharf hervortretende rothbraune Färbung erscheint. Die Speicherung ist abhängig von den obengenannten fällenden Stoffen; so kann z. B. die eine Pflanze Methylblau und Bismarckbraun, die andere aber nur ersteres speichern.

Zur Demonstration sind zu empfehlen Entengrütze (Lemna minor), die man auf einer 0,0005%igen Lösung von Methylenblau schwimmen lässt. Die Speicherung wird direkt durch die Färbung der Würzelchen merklich. Ein Spross von Elodea entfärbt eine gleiche Lösung in kurzer Zeit. Einzelheiten lassen sich am besten bei jungen Wurzelhaaren von Trianea bogotensis verfolgen. In einer 0,0001%igen Methylviolettlösung beginnt sich schon nach wenigen Minuten das strömende Plasma (s. Protoplasmabewegung) zu färben und man kann erkennen, dass es von den körnigen Einschlüssen aufgenommen ist, dann beginnt sich auch der Zellsaft zu färben, aber bald zeigen kleine Plasmavakuolen, dass die Zelle zu leiden beginnt und sie ist nur durch rasches übertragen in reines Wasser am Leben zu erhalten. Hier wird ebenso wie auch in allen übrigen Fällen der Farbstoff in kurzer Zeit vom Plasma ausgeschieden, während ihn der Zellsaft energisch festhält. — In 0,001—0,0005%iger Methylenblaulösung hat sich der Zellsaft nach 1—4 Stunden intensiv gefärbt und farbige krystallinische Niederschläge treten auf, während das Plasma ungefärbt bleibt. Nach 4—6 Tagen hat sich der Zellsaft entfärbt und enthält nur noch die Ausscheidungen, die durch 0,01% Citronsäure in etwa 6 Stunden fast völlig entfernt werden.

Litteratur: PFEFFER (Unters. bot. Inst. Tübingen, Bd. 2, 1886, und Pflanzenphysiologie, Bd. 1, pag. 87, 1897, dort gesammte Litteratur), CAMPBELL (Unters. bot. Inst. Tübingen, Bd. 2, 1886).

Magnus, Berlin.

Inulase siehe Enzyme.

Inulin $C_{12}H_{20}O_{10}$ findet sich im Zellsaft gelöst in vielen Pflanzen. Es ist unlöslich in Alkohol und Glycerin und wird in ihnen (gebräuchlich 50%iger Alkohol) nach längerem Liegen, mindestens 8 Tage, in Form von koncentrisch geschichteten kugeligen Gebilden ausgeschieden. Ihre Quellbarkeit und andere Gründe sprechen gegen ihre Sphärokrystallnatur (FISCHER). Sie sind anfänglich in kaltem, älteres Material nur in warmem Wasser löslich (Unterschied gegen die ähnlichen Calciumphosphatkrystalle, s. Calciumverbindungen in Pflanzen, 5. Calciumphosphat). 10%ige alkoholische Naphtollösung giebt nach Zusatz einiger Tropfen koncentrirter Schwefelsäure schwache, unter Deckglas erwärmt, intensive Violettfärbung. Thymol in gleicher Anwendung Rothfärbung (MOLISCH).

Litteratur: MOLISCH: (Sitz. Ak. Wiss., Wien, Bd. XCIII, II). FISCHER (COHN's Beitr., Bd. VIII, 1898).

Magnus, Berlin.

Invertase siehe Enzyme.

Jod und **Jodkalium.** Da Jod und Jodkalium in der mikroskopischen Technik häufig neben und für einander Verwendung finden, dürfte eine gleichzeitige Besprechung am geeignetsten sein. Die anderen jodhaltigen Verbindungen werden dagegen gesondert abgehandelt.

Jod J. ist ein schwarzgrauer, in rhombischen Tafeln oder Blättchen vorkommender Körper von metallähnlichem Glanze; beim Erhitzen entwickelt er tiefblaue, eigenthümlich riechende Dämpfe. Specifisches Gewicht 4,948 bei 17°. Jod ist wenig in Wasser löslich, annähernd in 5000 Theilen. Es löst sich in 10 Theilen Weingeist mit brauner Farbe, ferner leicht in Aether, Glycerin und Jodkaliumlösung mit brauner, in Chloroform und Schwefelkohlenstoff mit violetter Farbe.

Die officinelle Tinctura Jodi besteht aus einem Theil zerriebenen Jods und 10 Theilen Weingeist. Sie stellt eine dunkelrothbraune, nach Jod riechende Flüssigkeit dar, die sich in der Wärme ohne Rückstand verflüchtet.

Jod färbt Stärkekleister tiefblau. Es ist dies eine charakteristische Reaktion, die aber nur dem Jod, nicht seinen Verbindungen zukommt. Wenn man eine jodhaltige Flüssigkeit durch Filtrirpapier filtrirt, nimmt dieses blaue Farbe an.

Jodkalium (Kaliumjodid, Kalium jodatum). Kaliumjodid ist ein in weissen Würfeln krystallisirendes Salz von scharfem salzigen Geschmack. 100 Theile Wasser lösen ca. 130 Theile bei 0°, ca. 200 Theile bei 100°. In 90%igem Alkohol lösen sich ca. 6%. Wässerige Jodkaliumlösung ist für reines Jod ein gutes Lösungsmittel.

Jod und Jodkalium haben in der mikroskopischen Technik zu den verschiedensten Zwecken ausgedehnte Verwendung gefunden, besonders in Form der Lugol'schen Lösung (Jod 1, Jodkali 2, Wasser 100), die meist mit 3—4 Theilen Wasser verdünnt wird.

Zunächst beruht die Verwendung auf der erwähnten Eigenschaft, Stärke zu bläuen. Zum mikrochemischen Nachweis stellt man sich eine Lösung so dar, dass man einige Tropfen der Jodtinktur in einige Ccm. destillirten Wassers bringt. Man kann dann das Reagens mit Filtrirpapier absaugen und eine koncentrirte wässerige Chloralhydratlösung einwirken lassen (A. Meyer). Diese bringt die Stärkekörner zum Quellen. Diese Modifikation ist zum Nachweis geringer Stärkemengen geeignet.

Dagegen benützt man koncentrirte Jodjodkaliumlösungen, wenn es sich darum handelt, in Mikrotomschnitten Stärke nachzuweisen.

Nach diesen Principien kann man natürlich auch verfahren, wenn es sich um Stärkenachweis in den Fäces, im Mageninhalt etc. handelt. So wird oft die Frage zu entscheiden sein, ob Umwandlungen der Stärke eingetreten sind. Meissner hat auf diese Weise untersucht, ob von Rhizopoden und Infusorien aufgenommene Stärkekörnchen eine Veränderung erfahren.

Zum Nachweis von Chitin dient eine Jodchlorzinklösung; es tritt Violettfärbung ein. Nach Zander nimmt man wenig Jod, wenig Chlorzink und viel Wasser (vergl. Chitin und Chlorzinkjod).

Zur mikrochemischen Untersuchung kleiner Objekte auf Chitin verfährt Zander folgendermassen: Das Objekt wird mit Wasser unter ein Deckglas gebracht, von einer Seite ein Tropfen frisch bereiteter Jodjodkaliumlösung hinzugefügt, das Jod mit Wasser abgesogen, ein Tropfen Chlorzink hinzugefügt, worauf das braun gefärbte Objekt zum Theil entfärbt wird; das Chlorzink wird mit Wasser wieder entfernt, hierauf tritt violette Färbung ein.

Jod giebt ferner mit Amyloid und mit Glykogen charakteristische Reaktionen (siehe Amyloid, Corpora amylacea und Glykogen).

Eine wässerige Lösung von Jodjodkalium ist ferner eines der besten Reagentien auf Alkaloide, indem es mit diesen einen rothbraunen oder scharlachrothen Niederschlag giebt. So dient es nach Errera, Maistrian und Clautrian zum mikrochemischen Nachweis der Alkaloide in den Pflanzen. Während sich Glykogen beim Erwärmen des Präparates entfärbt, ist dies bei den Alkaloiden nicht der Fall. So ist es möglich, Glykogen von den Alkaloiden mikrochemisch zu unterscheiden.

Jod und Schwefelsäure färben Cellulose blau. Russow behandelt die zu untersuchenden Schnitte zunächst mit einer wässerigen Lösung von $^1/_3$% Jod und $1^1/_3$% Jodkalium und dann mit einem Gemisch von 2 Theilen koncentrirter Schwefelsäure und 1 Theil Wasser. Aehnlich bereiten V. Berthold und Höhnel zum Nachweis von Pflanzenfasern eine Jodlösung so, dass zu 100 Grm. einer 1%igen Jodkalilösung bis zur Sättigung Jod gesetzt wird. Mit dieser Lösung werden auf dem Objektträger die Fasern benetzt, dann wird mit Filtrirpapier getrocknet und 1—2 Tropfen einer Schwefelsäurelösung, bestehend aus 2 Theilen Glycerin, 1 Theil Wasser und 3 Theilen koncentrirter Schwefelsäure, die allmählich mit einander vermengt werden, hinzugesetzt.

Statt Jod und Schwefelsäure kann man auch eine Chlorzinkjodlösung benutzen, die Cellulose violett färbt. Nach Behrens löst man 25 Theile Chlorzink und 8 Theile Jodkalium in 8,5 Theilen Wasser und fügt so viel Jod, als gelöst wird, hinzu. Aehnlich so benützt Mangin Chlorcalciumjod, Jodphosphorsäure (ferner vergl. Zellmembranen, pflanzliche).

Während es sich bisher um Verwendung des Jod, resp. des Jodjodkalium als mikrochemisches Reagens gehandelt hat, sollen jetzt die anderweitigen Verfahren der Mikrotechnik besprochen werden, bei denen Jod und Jodkalium eine Rolle spielen.

Zunächst handelt es sich um Fixationen. Kent fixirt Infusorien mit einer Jodjodkaliumlösung. Er bereitet eine gesättigte Lösung von Jodkalium in destillirtem Wasser, fügt Jod hinzu, so lange es gelöst wird, filtrirt und verdünnt mit destillirtem Wasser, bis die Lösung gelbbraun gefärbt wird. Von der so bereiteten Flüssigkeit wird zu dem Wasser mit den Infusorien nur eine geringe Menge hinzugefügt. Aehnlich so fixirt G. Berthold die Meeresalgen. Er setzt einige Tropfen einer koncentrirten alkoholischen Jodlösung zum Meerwasser hinzu, bringt die Algen $^1/_2$—1 Minute in diese Flüssigkeit und entfernt das Jod durch häufiger gewechselten 50%igen Alkohol. H. Möller fixirt Hefen in 1%iger mit Jod gesättigter Jodkaliumlösung oder in derselben zehnfach verdünnten Lösung. Zum Studium der Embryonalentwicklung von Phyllodroma germanica fixirt Cholodkowsky die Kokons in Jod (1), Jodkali (1), Wasser (300). Overton fixirt kleine Objekte, z. B. Volvoxkugeln, mit Joddämpfen; Jodkryställchen werden im Reagenzglas erhitzt und die Dämpfe durch Umkehren des Glases über das Präparat gebracht. Zum Entfernen des Jods wird das Glas mit dem Präparat 2—3 Minuten bei ca. 40° erwärmt, wenn nöthig, hierbei ein Tropfen destillirten Wassers hinzugesetzt.

Zum Fixiren von Radiolarien verwendet Brandt gleiche Theile 70%igen Alkohols und Seewasser mit etwas Jodtinktur, so dass die Mischung deutlich gelb gefärbt ist, für $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde, dann gewöhnliches Wasser und 30—70%igen Alkohol. Endlich verwendet Dubosq Jodjodkalium zum Studium der acidophilen Granula bei der Fixation des Blutes von Chilopoden vor der Färbung mit Säurefuchsin.

Als Macerationsflüssigkeit von Blut, Knochenmark, Haut, Schleimhäuten, serösen Häuten, verschiedenen Epithelien, Leber, Nieren, Rückenmark und Muskeln benützt J. Arnold eine Jodjodkalilösung, bestehend aus 10 Theilen einer 10%igen Jodkalilösung und 5—10 Tropfen einer Lösung von 10 Grm. Jodkali und 5 Grm. Jod in 100 Grm. Wasser.

Ausgedehnte Verwendung finden Jod und Jodkalium fernerhin beim Auswaschen von Objekten, die in Sublimatgemischen fixirt sind (siehe Sublimat).

Zur Darstellung von Präparaten von intra vitam mit Anilinfarbstoffen injicirten Geschwulstpartikeln fixirt Haug mit Sublimat und bringt dann die Stücke in eine Lösung, bestehend aus Tinctura Jodi 2, Kal. jod. 1, Aq. dest. und Glycerin aa. 50.

Um jetzt zu den Färbungen überzugehen, muss zunächst der GRAM'schen Methode gedacht werden (siehe dort). Eine ähnliche Methode benützen HERMANN und HÄCKER bei der histologischen Untersuchung des Hodens.

Ueber die Verwendung der LUGOL'schen Lösung bei der Fibrinfärbung nach WEIGERT siehe diese; hier kommen noch die Verfahren von KROMEYER, BENECKE, UNNA in Betracht.

Nach LEE werden mit Viktoriablau zu färbende Schnitte vortheilhaft vorher mit Jodtinktur behandelt. Die officinelle Jodtinktur wird ferner benützt zur Vorbehandlung von Schnitten, die mit dem BIONDI'schen Dreifarbengemisch gefärbt werden (siehe dieses).

Bei der Färbung mit Bleu de Lyon nimmt TONKOFF etwas Jodtinktur zur Lösung des Farbstoffes in 36%igem Alkohol oder beizt die Schnitte in Jodtinktur.

Schnitte von Keimbläschen der Batrachier färben CARNOY und LEBRUN mit einem Hämateïngemisch und korrigiren mit Jodwasser. LUBARSCH färbt Glykogen (vergl. pag. 444) mit Jodhämatoxylin. Siehe ferner Silberimprägnation (Jodsilber, MÜLLER), Sehorgan (bei der Imprägnation der Cornea Verwendung von Joddämpfen), Palladium (Färbung des Axencylinders). Jodchlorid (Differenzirung vergoldeter Nervenzellen, ZIEHEN), Gliafärbung (mit Rubin, POPOW).

Bei der Konservirung von Methylenblaupräparaten, die durch vitale Injektion erhalten sind, ist eine gesättigte Lösung von Jod in Jodkali empfohlen worden.

Bei Trockenpräparaten von Spermatozoen bemerkt man nach NEUMANN beim Zusatz von Jod (1), Jodkalium (2), Wasser (100) ausser einem Aufquellen des Kopfes das Auftreten von röthlichbraunen Kügelchen; die unversehrt gebliebenen Theile zeigen die gewöhnliche gelbe Jodfarbe.

Litteratur: J. ARNOLD (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898), BEHRENS (Tabellen), BETZ (Arch. mikr. Anat, 1893), G. BERTHOLD (Jahrb. wiss. Bot., Bd. 13, 1882), V. BERTHOLD (Fachzeitung für Waarenkunde, 1883), BRANDT (Fauna u. Flora des Golfes von Neapel, 1885), CARNOY und LEBRUN (Cellule, Bd. 12, 1897), CHOLODKOWSKY (Mém. Ac. imp. St. Pétersbourg. Bd. 38, 1891), DUBOSQ (Arch. Zool. expér., Bd. 6, 1899), ERRERA, MAISTRIAN et CLAUTRIAN (Ann. Soc. Belge de Micr., Bd. 12), HÄCKER (Praxis und Theorie der Zellbefruchtungslehre), HAUG (Zeitschr. f. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), HERMANN (Arch. mikr. Anat., Bd. 34, 1889, HÖHNEL (Die Mikroskopie der technisch verwendeten Faserstoffe), KENT (Journ. Roy. Micr. Soc., Bd. 3, 1883), MANGIN Bull. Soc. bot France, Bd. 35, 1888), MEISSNER (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 46. 1888), A. MEYER, (Das Chlorophyllkorn, Leipzig 1883), H. MÖLLER (Centralbl. Bakt., Bd. 12, 1892), E. NEUMANN (VIRCH.'s Arch., Bd. 159, 1899), OVERTON (Bot. Centralbl, 1899 u. Zeitschr. wiss. Mikr, Bd. 7, 1890), RUSSOW (Sitzb. Naturf. Ges. Dorpat., Bd. 6), TONKOFF (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900). ZANDER (PFLÜGER's Arch., Bd. 56, 1897). *Mosse*, Berlin.

Jodgrün Syn. HOFMANN's Grün, das Pentamethylrosanilin kommt entweder in Form des Pikrats: $C_{20}\,H_{16}\,(CH_3)_3\,N_3 + 2\,[CH_3\,.\,C_6\,H_2\,(NO_2)_3\,.\,O]$ oder des Zinkdoppelsalzes: $C_{20}\,H_{16}\,(CH_3)_3\,N_3.(CH_3\,Cl)_2 + ZnCl_2$ in den Handel. Das erstere ist in Wasser fast unlöslich, das letztere dagegen leicht löslich. Die wässerige Lösung wird durch Salzsäure oder Ammoniak entfärbt. In Deutschland wird das Jodgrün fabrikatorisch nicht mehr dargestellt, es ist von dem Methylgrün völlig verdrängt worden.

Von englischen Histologen (STIRLING, RICHARDSON) in die Mikrotechnik eingeführt, ist es in Deutschland hauptsächlich von GRIESBACH für histologische, von ZIMMERMANN für botanische Zwecke empfohlen worden. GRIESBACH benützt zur Kernfärbung eine Lösung von 0,1 Grm. Jodgrün im 35 Ccm. Wasser. ZIMMERMANN mischt 9 Theile 0,1%iger wässeriger Jodgrünlösung mit 1 Theil koncentrirter wässeriger Fuchsinlösung. Färbung 10 Minuten, dann Differenziren in absolutem Alkohol, dem 1% Eisessig und 0,1% Jod zugesetzt sind. Protoplasma blassroth, Nukleolen tiefroth, Chromatin blau. Die Farbmischung ist nicht haltbar, sie muss immer frisch hergestellt werden.

Auch als Schleim- und Amyloidfärbungsmittel hat das Jodgrün Verwendung gefunden. (Näheres siehe Artikel: Amyloid, Metachromasie, Schleimfärbung).

Litteratur: Griesbach (Zool. Anz., 1882), Zimmermann (Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle, Bd. 2, Tübingen 1893), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 12, 1895), Rosen (Cohn, Beitr., B. 7, 1895).

Jodjodkalium siehe Jod.

Jodsäure, HJO_3, farblose Krystalle, die in Wasser leicht löslich sind. In wässeriger Lösung ist die Jodsäure ein kräftiges Oxydationsmittel.

Jodsäure stellt nach Lavdowsky ein vortreffliches Reagens auf das Blut dar. Er vermischt einen kleinen Tropfen von Neuviktoriagrün oder von Methylviolett 6 B mit einem grossen auf dem Objektträger befindlichen Tropfen eine 2%igen Jodsäurelösung, bringt in die Mischung einen Blutstropfen, bedeckt das Präparat mit einem Deckglase und untersucht so frisch die Blutkörperchen von Mensch und Säugethieren.

Litteratur: Lavdowsky (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893).

Jodserum. Jodserum wird aus Amnioswasser von Säugethieren bereitet; es dienen dazu die Uteri von Schafen oder Kühen. Das durch Anstechen gewonnene Serum wird aufgefangen und mit einem Stückchen Jod versetzt. Man kann auch Serum mit viel Jodtinktur versetzen, stehen lassen, filtriren und von diesem stark jodhaltigen Serum zu dem Serum, das benützt werden soll, zusetzen.

Das ist die Vorschrift von Ranvier. Künstliches Jodserum nach Frey besteht aus 270 Ccm. dest. Wassers, 30 Ccm. Eiweiss, 2,5 Grm. Kochsalz; es wird filtrirt und Jodtinktur hinzugesetzt.

Jodserum ist von Schultze als Untersuchungsmedium eingeführt. Auch Brass untersucht lebende Gewebe u. a. in Jodserum. Ferner dient es als Macerationsflüssigkeit.

Litteratur: Brass (Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Frey (Das Mikroskop), Ranvier (Traité technique), Schultze (Virch. Arch., Bd. 30, 1864). *Mosse*, Berlin.

Jodtinktur siehe Jod.

Jodviolett, Syn. für Dahlia.

Von Jürgens ist das Jodviolett als Reagens auf Amyloid eingeführt worden, das gesunde Gewebe färbt sich blau, das degenerirte roth. Bald darauf empfahl Ehrlich den Farbstoff zur Darstellung der Mastzellengranulationen: koncentrirte Lösung von Jodviolett in Drittelalkohol mit Zusatz von 5% Eisessig.

Jodwasser siehe Jod.

Iridiumchlorid, $Ir.Cl_4$, entsteht beim Lösen von fein vertheiltem metallischen Iridium in Königswasser. Es ist mit rothbrauner Farbe in Wasser löslich. Schwefelwasserstoff führt es in Schwefeliridium, Kalilauge zunächst in Kaliumiridiumchlorid und bei weiterem Zusatz in Iridiumsesquichlorid: $Ir_2\,Cl_6$ über.

Iridiumchlorid empfiehlt Eisen als gutes Fixationsmittel entweder im Gemisch mit einem Theil Eisessig auf 100 Theile $^1/_5$- oder $^1/_2$%iger Iridiumchloridlösung oder zusammen mit Platinchlorid in folgender Zusammensetzung: $^1/_2$%iges Platinchlorid und $^1/_2$%iges Iridiumchlorid aa. 50, Eisessig 1. Beide Gemische fixiren bei kurzer, achtstundenlanger und bei monatelanger Behandlung die Objekte in gleich guter Weise. Nach einigen Stunden Auswaschen in Wasser folgt die Alkoholbehandlung. Lee findet, dass Iridiumchlorid ohne Platinchlorid überhaupt nicht fixire!

Litteratur: EISEN (Zeitschr. für Mikr., Bd. 14, 1897), LEE und MAYER (Grundzüge, pag. 51).

Poll, Berlin.

Iris siehe Sehorgan.

Irisblende siehe Mikroskop.

Isobutylalkohol (Gährungsobutylalkohol), $\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\!\!>CH-CH_2.OH$, ist in grosser Menge im Fuselöl enthalten und bildet den gewöhnlichen »Butylalkohol« des Handels; er ist der normalen Verbindung sehr ähnlich, siedet bei 108°, hat bei 20° das spec. Gewicht 0,802. Löst sich bei Zimmertemperatur in etwa 10 Theilen Wasser und ist daraus durch Salze leicht abscheidbar.

Neuberg, Berlin.

Der Isobutylalkohol ist von VAN HEURCK zur Präparation von Diatomeen empfohlen wurden.

Litteratur: VAN HEURCK (Traité des Diatomées, Anvers 1899).

Isolationsmethoden, mechanische, dienen zur Trennung einzelner Gewebsbestandtheile und werden entweder allein an frischen Gewebsstücken angewandt oder im Anschluss an die durch andere Methoden (siehe Macerationsmethoden) herbeigeführte Auflockerung der Gewebe, oder nach vorausgehender Fixirung und Härtung derselben.

1. Zerzupfen mittels feiner Stahlnadeln (Nähnadeln) oder Glasnadeln (in feine Spitzen über der Flamme ausgezogene Glasstäbchen) (für Muskeln, Nerven u. s. w.) (genauere Vorschriften bei RANVIER, pag. 66 und 222).

Es wird in manchen Fällen erleichtert durch gleichzeitige Anwendung der »halben Eintrocknung«. Bei dieser wird das Gewebe ohne Zusatzflüssigkeit auf den Objektträger gebracht und mässig angespannt; es trocknet, namentlich am Rande, allmählich etwas ein und haftet dann so fest am Glase, dass sich einzelne Elemente bequem mit den Nadeln abziehen lassen (für Bindegewebe u. s. w.) (RANVIER, pag. 68).

2. Auspinseln mit feinen Haarpinseln (rothen Marderpinseln), zuerst von W. HIS für die Darstellung des Retikulums in der Milz, Lymphknoten, Thymus und ähnlichen Organen angewandt. Die Organe werden frisch verwendet oder vorher gehärtet. Für die Härtung benutzte HIS in der Regel verdünnten (cirka 70%igen) Alkohol. Man breitet dünne Schnitte der Organe auf dem Objektträger mit viel Flüssigkeit aus und entfernt durch wiederholtes Auftupfen mit dem Pinsel die auf dem Retikulum und in den Maschen desselben liegenden Zellen. BILLROTH spülte die Schnitte in Glycerin ab und pinselte in Glycerin aus. Untersuchung in Glycerin.

Die Schnitte können auch gefärbt und in Balsam eingeschlossen werden.

3. Schütteln in Flüssigkeiten. Entweder man bringt das Objekt oder Schnitte von ihm in ein Probierglas mit einer geringen Menge Flüssigkeit, schüttelt es darin und untersucht einen dem Grunde des Glases entnommenen Tropfen oder die Schnitte. Oder man überträgt ein kleines Gewebsstück mit einem Tropfen Flüssigkeit auf einen Objektträger. Dieser wird ungefähr um 20° geneigt, so dass sich der Tropfen etwas unterhalb des Objektes zusammenzieht, ohne wegzufliessen. Dann wird das Objekt mit einer Nadel in der Flüssigkeit geschüttelt, und die losgelösten Elemente sammeln sich nach und nach im unteren Theile des Tropfens an (für Epithelien u. s. w.). (RANVIER, pag. 69.)

BÖHM und OPPEL (pag. 156) empfehlen, Lymphdrüsenschnitte in mit Froschgalle versetztem Wasser zu schütteln; sie glauben so in kürzerer Zeit bessere Resultate erhalten zu haben. Einen auf Vorschlag von MERKEL vom Mechaniker WESTIEN in Rostock konstruirten Schüttelapparat beschreibt SCHIEFFERDECKER (pag. 161).

4. Klopfen. Man bringt das (macerirte) Gewebe auf einen Objektträger, legt ein Deckglas darauf, das man an allen 4 Ecken durch kleine Wachskügelchen (Wachsfüsse) unterstützt, und klopft nun mit einer Nadel sanft auf dem Deckglas umher, so dass dieses allmählich heruntergedrückt wird und die Zellen des Gewebes auseinander drängt (für Epithelien u. s. w.) (Lee-Mayer, pag. 275). Das Material zu den Wachsfüssen empfiehlt Vosseler, durch Schmelzen von weissem Wachs und Hineinrühren von $^1/_2$—$^2/_3$ seines Gewichtes an venetianischem Terpentin herzustellen.

5. Zerdrücken der auf dem Objektträger liegenden Gewebstheile durch einen auf das Deckglas ausgeübten Druck, eventuell unter Anwendung eines »Kompressoriums«. Früher vielfach, namentlich von den Zoologen, angewandt.

6. Interstitielle Injektion oder künstliches Oedem von Ranvier (pag. 69) zur Trennung vielfach verschlungener Netze von Fasern (namentlich Bindegewebsfasern) angegeben. Ausführliches siehe in angeführter Originalvorschrift. Renaut (pag. 197) empfiehlt zur Darstellung der Bindegewebszellen und ihrer Anordnung die interstitielle Injektion einer Lösung von 1 Theil Eosin in 100 Theilen Drittel-Alkohol (Ranvier).

Litteratur: Ranvier (Technisches Lehrbuch), His (Zeitschr. wiss. Zool., Bd. 10 und 11, 1860 und 1861), Billroth (ebenda, Bd. 11, 1861), Behrens, Kossel und Schieffferdecker (Das Mikroskop), Böhm und Oppel (Taschenbuch der mikr. Technik), Lee und Mayer (Grundzüge), Vosseler (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 7, 1890), Renaut (Traité). *Spalteholz,* Leipzig.

Isopoden siehe Arthropoden.

K.

Kaiserroth, Syn. für Methyleosin.

Kaliumacetat, CH_3—CO.OK, essigsaures Kalium, Kali aceticum, entsteht durch Eintragen von Kaliumkarbonat in 30%ige Essigsäure und stellt ein weisses, krystallinisches, hygroskopisches Pulver dar. Es löst sich in Wasser zu 250% zu einer ganz schwach alkalisch reagirenden Flüssigkeit. In absolutem Alkohol ist es bei Zimmertemperatur zu cirka 30% löslich. Der Brechungsexponent der koncentrirten wässerigen Lösung beträgt 1,370. Der offic. Liquor Kalii acetici enthält 33,3—34,5% des trockenen Salzes.

Das essigsaure Kalium hat früher auf die Empfehlung von Max Schultze hin eine grosse Bedeutung als Einschlussmedium gehabt. Sein geringer Brechungsexponent macht viele feine Strukturen sichtbar, seine starke Wasseranziehung verhindert ein Verdunsten, auch manche Farbstoffe halten sich in ihm recht gut. Zum Einschluss verwendet man eine 50%ige oder koncentrirte wässerige Lösung. Heute wird es nur noch selten angewandt.

Kaliumalaun siehe Alaun.

Kaliumarsenat, KH_2AsO_4, Macquer'sches Salz, entsteht beim Zusammenschmelzen von Arsenigsäureanhydrid und Kaliumnitrat. Farblose Krystalle, die in Wasser zu 5%, in Alkohol zu 4% löslich sind.

Kaliumarsenit, $KAsO_2$ Kaliummetarsenit, arsenigsaures Kalium, stellt eine syrupöse Masse dar, welche entsteht, wenn man Arsenigsäureanhydrid mit Kaliumkarbonat kocht. Es ist in Wasser leicht löslich und in der Form des Liquor Kalii arsenicosi oder Fowler'scher Lösung officinell. Dieselbe enthält ungefähr 1% Arsenigsäureanhydrid und einen Zusatz von Melissenspiritus.

van der Speck und Unna benutzten Kalium arsenicosum als Entfärbungsmittel für Methylenblaupräparate zur Darstellung der Plasmazellen.

Kaliumbichromat siehe Chromsaure Salze.

Kaliumchlorid, K Cl, Kalium chloratum, findet sich in der Natur als Sylvin, krystallisirt in Würfeln oder Oktaëdern, ist in Wasser bei 15° zu 33,4% löslich, in Alkohol oder Salzsäure unlöslich. In der vierfachen Menge Wasser gelöst, erniedrigt sich die Temperatur der Lösung um 11°.

In der Mikrotechnik wird es als Zusatz zu physiologischer Kochsalzlösung benützt, auch zur Ausfällung mancher Farbstoffe, z. B. von indigschwefelsaurem Natron ist es verwendet worden.

Kaliumchlorat, $KClO_3$, chlorsaures Kali, Kali chloricum, wird erhalten durch Einleiten von Chlor in Kalkmilch und Umsetzung des entstandenen Calciumchlorats durch Chlorkalium. Es bildet farblose Blättchen, welche sich bei 15° zu 6%, bei 35° zu 12%, bei 100° zu 60% in Wasser mit neutraler Reaktion lösen. In absolutem Alkohol lösen sich ca. 0,8%. Mit Superoxyden erwärmt giebt es seinen Sauerstoff ab, mit organischen Körpern verrieben oder auch nur unvorsichtig gemischt explodirt es. Mit Salzsäure zersetzt es sich unter Bildung von freiem Chlor, ebenso, aber viel heftiger unter Explosion bei Zusatz von koncentrirter Schwefelsäure.

Das chlorsaure Kali wird in der Mikrotechnik hauptsächlich zur Entwicklung von Chlor mittels Salzsäure verwendet. (Näheres siehe Pigment.) Auch zum Maceriren von Muskeln ist es in Verbindung mit Salpetersäure von KÜHNE benützt worden.

Kaliumcyanid siehe Cyankalium.

Kaliumhydroxyd, KOH, Kalium hydricum, Kali causticum, Aetzkali, kaustisches Kali, wird erhalten durch Eintragen von Aetzkalk in eine Lösung von Kaliumkarbonat und längeres Kochen. Der entstehende Liquor Kalii caustici wird abgezogen, eingedampft und in Stangenform gegossen (Kali causticum fusum). Es stellt das letztere eine weisse, krystallinische Masse vom specifischen Gewicht 2,05 dar, die an der Luft begierig Wasser und Kohlensäure anzieht und dabei zerfliesst. In Wasser ist es in der Hälfte seines Gewichtes löslich bei Zimmertemperatur, auch in Alkohol ist es leicht löslich, doch zersetzen sich die alkoholischen Lösungen bald unter Braunfärbung und Bildung von Essigsäure, Aldehyd etc. Als Normalkalilauge bezeichnet man eine Lösung von 56 Grm. Kaliumhydroxyd in 1000 Ccm. Wasser.

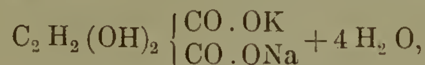
Die Kalilauge ist ein in der Mikrotechnik sehr häufig gebrauchtes Reagens, sie hat wie alle stark alkalischen Medien (Natronlauge, Kalkwasser, Barytwasser, Ammoniak etc.) die Fähigkeit, die Kittsubstanzen zu lösen. Um aber dabei die Zellform und bis zu einem gewissen Grade auch die Zellstruktur zu erhalten, muss man die Lauge in starker Koncentration anwenden. Am besten eignet sich die von MOLESCHOTT empfohlene 32,5%ige Kalilauge: man löse 32,5 Grm. Kali causticum fusum in 67,5 Ccm. Wasser. Da die Kalilauge bei längerem Stehen durch Aufnahme von Kohlensäure leicht verdirbt, so soll man immer möglichst frische Lösungen benützen. (Näheres über ihre Anwendung siehe in dem Artikel Maceration.) Kalilauge ist ein gutes Lösungsmittel für viele Eiweisskörper, indem sie dieselben in Alkalialbuminate überführt, die im Ueberschuss der Lauge löslich sind, das gilt für Fibrin, Acidalbumin, Nukleïn, Elastin etc. Das letztere ist in dünner Lauge unlöslich. Ganz unlöslich in Kalilauge ist das Chitin. Da die Kalilauge ein so gutes Lösungsmittel für die Eiweisskörper ist, kann sie auch als Aufhellungsmittel für thierische und pflanzliche Präparate dienen.

Kaliumhypochlorit siehe Eau de Javelle.

Kaliumjodid siehe Jodkalium.

Kaliummonochromat siehe Chromsaure Salze.

Kalium-Natriumtartrat, Tartarus natronatus:



$$C_2H_2(OH)_2 \begin{cases} CO.OK \\ CO.ONa \end{cases} + 4\,H_2O,$$

Seignettesalz, farblose, rhombische Säulen, die an der Luft leicht verwittern, in Wasser leicht löslich (bei 11° 40,5%), in Alkohol unlöslich sind.

Das Seignettesalz findet bekanntlich Verwendung zur Darstellung der FEHLING'schen Lösung; dieselbe wird hergestellt durch Vermischung von

gleichen Volumina folgender drei Lösungen: 1. 34,639 Grm. Kupfervitriol werden in 300 Ccm. Wasser gelöst und auf 500 verdünnt; 2. 60 Grm. frisch geschmolzenes Natriumhydroxyd werden in 500 Ccm. Wasser gelöst; 3. 173 Grm. Seignettesalz werden in 300 Ccm. Wasser gelöst und auf 500 verdünnt. Die Mischung wird immer frisch hergestellt und dient zum Nachweis von Zucker. WEIGERT setzt der zum Beizen verwendeten Kupferacetatlösung 5% Seignettesalz zu. (Näheres siehe Nervenfasern [Markscheiden].)

Kaliumpermanganat, Kalium hypermanganicum, übermangansaures Kali, $KMnO_4$, bildet dunkelviolette, fast schwarze Prismen vom specifischen Gewicht 2,7, die in 16 Theilen kalten, in 3 Theilen siedenden Wassers löslich sind. Die Lösung ist purpurfarben. Kalium hypermanganicum ist eines der stärksten Oxydationsmittel. So werden Eisenoxydulin Eisenoxydsalze bei Gegenwart von Schwefelsäure quantitativ übergeführt, ebenso Oxalsäure in Kohlendioxyd; die meisten organischen Stoffe werden zu Kohlensäure und Wasser oxydirt.

Auf seinen oxydirenden Eigenschaften beruht die Verwendung des übermangansauren Kali im chemischen Laboratorium, als Desinfektionsmittel, wobei man im Grossbetriebe sich häufig des Natriumsalzes bedient, sowie in der mikroskopischen Technik. So wird es benützt, um das Unbrauchbarwerden, d. h. die Reduktion von Osmiumsänrelösungen zu verhindern (siehe Osmiumsäure, auch über die Verwendung des Salzes nach der Fixation zur Entfernung aus den Schnitten).

Des weiteren dient es dazu, Hämatoxylinlösungen zum »Reifen« zu bringen, d. h. zu oxydiren; siehe Hämatoxylin. Zum gleichen Zwecke ist es auch bei der HEIDENHAIN'schen Eisenalaun-Hämatoxylinmethode in Verwendung gekommen, sowie von HERMANN zur Darstellung der Centralkörper. HENNEGUY ferner beizt fünf Minuten lang die Schnitte in einer 1%igen Lösung von übermangansaurem Kali vor der Färbung mit Anilinfarbstoffen und differenzirt dann mit Alkohol. Ueber die weitere Verwendung des Salzes siehe bei Silber, bei der Markscheiden- und Neurogliadarstellung in diesen Kapiteln, bei der Bleichung von Celloidinschnitten durch die Chorioidea, sowie bei der Darstellung der Corneafasern bei Sehorgan, bei der LUSTGARTEN'schen Färbung der Smegmabacillen bei Syphilisbacillen. Das Kaliumpermanganat dient auch als Reagens auf Verholzung. (Näheres siehe Zellmembranen, pflanzliche.)

Litteratur: HENNEGUY (Journ. de l'Anat. Physiol., 27. Jg., 1891). *Mosse,* Berlin.

Kaliumnitrat, KNO_3, Kali nitricum, Salpeter, Kalisalpeter, bildet farblose rhombische Prismen, die sich bei 15° zu 26%, bei 100° zu 247% in Wasser lösen, in Alkohol unlöslich sind. Bei höherer Temperatur ist es ein starkes Oxydationsmittel, das alle Metalle mit Ausnahme von Gold und Silber oxydirt. Die wässerige Lösung reagirt neutral und hat starke fäulnisswidrige Eigenschaften.

Das Kaliumnitrat hat als Neutralsalz in der Mikrotechnik nur eine sehr geringe Verwendung gefunden z. B. zur Vorbehandlung bei der Versilberung an Stelle von Chlornatrium oder in hochprocentiger Lösung, um Zellschrumpfungen hervorzurufen (KOLOSSOW).

Kaliumquecksilberjodid ist eine Lösung von Quecksilberjodid und Jodkalium in Wasser, die als Einschluss- und als Quellungsmittel zuerst von STEPHENSON und DIPPEL Verwendung gefunden hat. Die Vorschrift der Darstellung ist bei den Autoren verschieden. STEPHENSON setzt beide Salze im Ueberschuss zu, so dass ein Theil von ihnen nicht in Lösung geht. Die so erhaltene Flüssigkeit hat dann ein specifisches Gewicht von 3,02 und einen Refraktionsindex = 1,68; niedrigere Indices werden durch Verdünnen mit Wasser erhalten.

Behrens nimmt 65 Grm. Quecksilberjodid, 50 Grm. Jodkalium, 25 Ccm. Wasser; der Index der filtrirten Lösung ist 1,712. Statt der wässerigen Lösung verwendet Amann eine Lösung in heissem wasserfreien Glycerin; die sehr dickflüssige Lösung hat einen Index von 1,78 bis 1,80. Amann verwendet als Verschlusslack entweder Bernsteinlack oder besten Dammarlack mit 2% gekochtem Leinöl versetzt.

Kain macht auf die Giftigkeit des Präparates aufmerksam; ausserdem könne es leicht Immersionssysteme verderben.

Litteratur: Jules Amann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), Dippel (Bot. Centr., Bd. 11, 1882 u. Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), Kain (Journ. R. Micr. Soc., Bd. 4, 1884), Stephenson (Journ. R. Micr. Soc., Bd. 2, 1882). *Mosse*, Berlin.

Kaliumsulfit, K_2SO_3, Kalium sulfurosum, bildet ein weisses Pulver, das in Wasser leicht löslich ist. Säuren machen aus den wässerigen Lösungen schweflige Säure frei, die sofort in Wasser und Schwefeldioxyd zerfällt. Bei längerem Stehen geht das Kaliumsulfit nach und nach in Kaliumsulfat über.

Kalkschwämme siehe Coelenteraten.

Kalkwasser. Als Kalkwasser bezeichnet man eine wässerige Lösung Calciumhydroxyd: $Ca(OH)_2$. Dieselbe wird hergestellt indem man 1 Theil gebrannten Kalk, Calciumoxyd, CaO mit 1 Theil Wasser anrührt und wartet, bis es vollständig zum Pulver zerfallen ist. Dann verrührt man mit 50 Theilen Wasser, wartet einige Zeit, giesst die trübe Flüssigkeit ab und rührt den Bodensatz wiederum mit 50 Theilen Wasser an. Man verwahrt in gut schliessender Flasche und benützt die nach 24 Stunden über dem ungelösten Bodensatz stehende klare Flüssigkeit. Man erhält so eine alkalisch reagirende Flüssigkeit, welche bei Zimmertemperatur ungefähr 0,18% Calciumhydroxyd enthält. Da das Kalkwasser begierig aus der Luft Kohlensäure anzieht, soll es in gut verschlossenen und möglichst gefüllten Flaschen aufbewahrt werden.

Kalkwasser bildet ein geschätztes Macerationsmittel für Bindegewebe, vor allem für Sehnen. Lässt man Haut einige Zeit in ihm liegen, so kann man die Epidermis leicht abziehen.

Kammerwasser siehe Humor aqueus.

Kampher. Die Kampherarten sind im Pflanzenreiche sehr verbreitete Verbindungen. Der gewöhnliche Kampher, der Japankampher $C_{10}H_{16}O$ wird aus dem Kampherbaum (Laurus camphora) durch Destillation mittels Wasserdämpfen gewonnen. Er stellt eine weisse, krystallinische Masse von eigenartigem Geruch und brennendem Geschmack dar. Specifisches Gewicht 0,98. Er ist in Wasser fast gar nicht, in Alkohol, Aether, fetten und ätherischen Oelen, Chloroform, Kreosot, Schwefelkohlenstoff, wasserfreier Essigsäure leicht löslich. Um Kampher zu pulvern, wird er vorher mit Aether oder Weingeist besprengt (Camphora trita).

Der Kampher findet in der praktischen Medicin ausgedehnte Verwendung; in der mikroskopischen Technik beruht sein Gebrauch vornehmlich auf seinen antiseptischen Eigenschaften. So als Zusatz zu den von Fabre-Domergue angegebenen Untersuchungsflüssigkeiten; es werden 10 Theile eines Syrups von Traubenzucker vom specifischen Gewicht 1,2, 2 Theile Methylalkohol, 1 Theil Glycerin, Kampher, so viel sich löst, genommen und die Säure der Mischung durch Soda neutralisirt; nach einer neueren Vorschrift werden 200 Theile Zucker in 400 Theilen kalten Wassers gelöst, 1 Theil Formaldehyd, Kampher, so viel sich löst, hinzugefügt, neutralisirt, und in einer Verdünnung dieser Flüssigkeit untersucht. Strasburger empfiehlt einen Zusatz von Kampher zu mit Wasser verdünntem Hühnereiweiss

zur Untersuchung pflanzlicher Eier. Duval setzt bei der Härtung von Gehirnen in Chromsalzen ebenfalls etwas Kampher hinzu.

Kampher findet ferner Verwendung infolge seiner Eigenschaft, die Löslichkeit des Sublimats in Wasser, Alkohol und Aether zu erhöhen. Er wird deshalb bei der Fixation in Sublimatlösungen diesen zugesetzt. Siehe Sublimat. Auf der gleichen Eigenschaft beruht das Ausziehen überschüssigen Sublimats, durch Einlegen der Objekte in eine auf 58 bis 60° erwärmte Lösung von Kampher in 60—70%igem Alkohol (Keiser).

Litteratur: Duval (Journ. Anat. Phys., Bd. 12, 1876), Fabre-Domergue (La nature, 1889 u. Bull. Soc. Philomatt., Bd. 1, 1899), Keiser (Biblioth. Zool., Bd. 7, 1891), Strasburger (Botan. Praktikum). *Mosse*, Berlin.

Kampherspiritus. 1 Theil Kampher wird in 7 Theilen Spiritus gelöst, 2 Theile Wasser zugefügt und filtrirt. Klare, farblose Flüssigkeit von starkem Geruch. Specifisches Gewicht 0,88.

Fol setzt Kampherspiritus zur Glyceringelatine hinzu: *a)* Mischung von 30 Theilen Gelatine, 70 Wasser, 100 Glycerin, hierzu 5 Theile Kampherspiritus; *b)* 20 Theile Gelatine, 150 Wasser, 100 Glycerin, 15 Kampherspiritus.

Collinge härtet Teleostiereier in einem Gemisch von 1 Theil Kampherspiritus, je 4 Theilen 2%iger Essigsäure und Alkohol, nachdem die Eier in Seewasser, dem auf je 30 Ccm. 3—4 Tropfen einer mit 5%iger Salzsäure vermischten Pikrinsäurelösung hinzugesetzt werden, getödtet sind.

Litteratur: Collinge (Ann. Mag. N. H., Bd. 10), Fol (Lehrbuch). *Mosse*, Berlin.

Kampherwasser ist eine Kamphermaceration, die in verschiedenen Ländern verschieden bereitet wird. Während Kampherwasser in der deutschen Pharmakopoe nicht geführt wird, werden nach der amerikanischen 8 Theile Kampher mit 5 Spiritus und 5 Calcar. phosphor. praecipit. angerieben, dann genügend destillirtes Wasser zugesetzt, um 1000 Filtrat zu erhalten. In England wird dagegen eine 0,31%ige, in Frankreich eine 0,2%ige Maceration vorgeschrieben.

In der mikroskopischen Technik hat Kampherwasser bisher nur wenig Verwendung gefunden, in den wenigen Fällen analog dem Kampher selbst. *Mosse*, Berlin.

Kanadabalsam wird aus verschiedenen in Nordamerika heimischen Coniferen (Abies balsamea, Abies canadensis) gewonnen und stellt ein hellgelbes, klares, dickflüssiges Harz dar. Er enthält ausser 75—80% amorphen Harzes noch 20—25% ätherisches Oel. Kanadabalsam reagirt schwach sauer. er löst sich klar in Aether, Chloroform, Benzol. Terpentinöl, Xylol, Cedernholzöl und Amylalkohol, theilweise löslich ist er in Alkohol, Schwefelkohlenstoff und Aceton. Der Brechungsindex des Kanadabalsams beträgt bei 15—20° 1,535.

Kanadabalsam ist heute das bei weitem am meisten gebrauchte Einschlussmittel für mikroskopische Präparate und als solches auch den meisten anderen vorzuziehen, da er einmal ausgezeichnet definirt und zweitens die meisten Färbungen gut konservirt. Da Kanadabalsam meistens etwas sauer reagirt, diese saure Reaktion aber vielen Färbungen verderblich wird, so soll man den Balsam durch Eintragen von etwas Kaliumkarbonat neutralisiren und dann auf dem Sandbad so lange erhitzen, bis er beim Erkalten eine glasharte, spröde Masse bildet. Dadurch werden die flüchtigen Bestandtheile vertrieben.

Als Lösungsmittel für den so zubereiteten Balsam empfiehlt sich am meisten das Xylol. Man halte sich eine syrupdicke Lösung vorräthig und verdünne nach Belieben. Im allgemeinen wird man für dünne Schnitte auch einen dünnen Balsam nehmen, da so die Balsamschicht, in der das Präparat liegt,

eine möglichst dünne wird. Für dickere Schnitte nehme man einen dickeren Balsam, da sich sonst beim Verdunsten des Xylols Hohlräume zwischen Deckglas und Objektträger bilden, die man durch Nachfüllen beseitigen muss. Von anderen Lösungsmitteln kommen noch Chloroform, Benzol und Terpentinöl in Betracht. Die beiden ersteren haben den Vorzug, dass sie rascher verdunsten als Xylol, und können manchmal mit Vortheil Verwendung finden. Terpentinölbalsam wird nur sehr langsam hart, wird aber vielen Färbungen gefährlich. Alkoholbalsam, von Seiler empfohlen, ist für die meisten Anilinfarben ebenfalls unverwendbar.

Kaninchensepticämiebacillus, Bacterium cuniculicidum. Färbt sich leicht mit den gebräuchlichen wässerigen Lösungen der basischen Anilinfarbstoffe. Nach der Gram'schen Methode werden die Bacillen der Kaninchensepticämie entfärbt. Schnittpräparate behandelt man nach den bekannten Methoden. *Künnemann*, Breslau.

Kanülen siehe Injektion.

Kapillaren, Verwendung derselben zur mechanischen Veränderung der Eiform, siehe Experimentell embryologische Methoden.

Kapillarrotator siehe Experimentell embryologische Methoden.

Karbolfuchsin siehe Fuchsin.

Karbolsäure, Phenol, C_6H_5-OH, bildet eine farblose, krystallinische Masse. In ganz reinem Zustande krystallisirt sie in farblosen Prismen; sie schmilzt bei 42°, löst sich in 15 Theilen Wasser bei 16°, ist sehr leicht in Alkohol, Aether, Chloroform, Glycerin, Schwefelkohlenstoff, Eisessig und Natronlauge löslich. Karbolsäure besitzt einen charakteristischen Geruch und stark antiseptische Eigenschaften. In einer Lösung von 20 Theilen Karbolsäure und 20 Theilen Weingeist ruft 1 Theil Eisenchlorid eine schmutziggrüne Färbung hervor; diese geht beim Verdünnen in Wasser bis zu 1000 Theilen in eine schön violette Färbung über.

Karbolsäure findet in der praktischen Medicin Verwendung wegen ihrer antiseptischen Eigenschaft, in der mikroskopischen Technik zum Theil aus demselben Grunde. So setzt Kaiser zu 100 Grm. einer Gelatine, die zum Einbetten benutzt wird, 1 Grm. Karbolsäure hinzu; zu Zuckersaft, der als Untersuchungsflüssigkeit dient, wird in demselben Verhältniss Karbolsäure zugefügt, ebenso wird Glyceringelatine mit Karbolsäure versetzt, und zwar zu Zwecken der Injektion, wie als Untersuchungsflüssigkeit.

Weiterhin findet Karbolsäure als Zusatz zu Anilinfarbstoffen Verwendung, und zwar in ausgedehnter Weise als Zusatz zum Fuchsin in Form des Karbolfuchsins, das in der bakteriologischen Technik, besonders bei der Färbung der Tuberkelbacillen, viel gebraucht wird. Ebenso ist ein Karbolwassergentianaviolett, ein Karbolmethylenblau, ein Karbolthionin (Nicolle) in der bakteriologischen Technik im Gebrauche; das letztere wird auch bei der Untersuchung entkalkter Knochen verwendet.

Statt der Fixation mit wässeriger Sublimatlösung allein benutzt Pappenheim diese Lösung mit Karbolsäure geschüttelt und filtrirt.

Ferner wird Karbolsäure allgemein nach Weigert als Aufhellungsmittel von Celloidinschnitten zusammen mit Xylol benutzt. Es werden 3 Theile Xylol und 1 Theil Karbolsäure benutzt. Aehnlich nimmt Eycleshymer ein Gemisch von Bergamottöl, Cedernöl und Karbolsäure zu gleichen Theilen. Gage hellt in einem Gemisch auf, das aus 40 Ccm. geschmolzener Karbolsäure und 60 Ccm. Terpentinöl besteht.

Litteratur: Eycleshymer (Americ. Natural., Bd. 26, 1892), Gage (Amer. Soc. Micr., Bd. 13, 1890), Pappenheim (Virch. Archiv, Bd. 157, 1899), Weigert (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886).

Mosse, Berlin.

Karcinom siehe Geschwülste.

Karmalaun siehe Karminsäure.

Karmin ist nicht etwa mit Karminsäure identisch, sondern nach den Untersuchungen von C. Liebermann eine Verbindung der Karminsäure mit Aluminium, Calcium und Proteïnstoffen (eine gute Sorte enthielt etwa 56% Karminsäure, je 3% Thonerde und Kalk, 20% stickstoffhaltige Substanzen und 17% Wasser), kommt aber im Handel auch mit allerlei Verunreinigungen vor. Es muss in einer wässerigen Lösung von Borax leicht und klar löslich sein, soll sich dagegen in destillirtem Wasser auch bei längerem Kochen nur spurweise lösen und in Alkohol überhaupt nicht. Leicht löslich ist es ferner in Wasser bei Zusatz von kaustischen und kohlensauren Alkalien, weniger leicht und theilweise nur unter Zersetzung in Lösungen von Alaun, Aluminiumchlorid (oder -nitrat), sowie in Essigsäure und Mineralsäuren. In starkem Alkohol nur bei Gegenwart von Säure (besonders Salzsäure). Beim Glühen auf dem Platinblech darf es nur wenig weisse Asche hinterlassen.

Gewonnen wird das Karmin aus dem Safte der Kochenille (siehe pag. 151), jedoch sind die Einzelheiten der Bereitung das Geheimniss der Fabrikanten.

Zum Färben von thierischen Geweben hat es zuerst Corti (1851) gebraucht, für Pflanzen zuerst Hartig; die allgemeine Verwendung datirt von Gerlach (1858). Von wässerigen Karmingemischen sind sehr viele angegeben worden, die meisten freilich ohne guten Grund; die alkoholischen hat Grenacher eingeführt. In der Regel dienen sie zur Färbung der Kerne und des Plasmas, einige jedoch sind exquisite Kernfärbemittel, und eines (Mucikarmin) wird ausschliesslich zum Tingiren des Schleimes verwandt. Die Färbungen sind, wo nicht anders angegeben, bei richtigem Vorgehen in Balsam wohl unbegrenzt lange haltbar, ebenso in Vosseler's Terpentin, in Glycerin meist nur, wenn dieses nicht alkalisch reagirt.

Zum Injiciren löst man gewöhnlich das Karmin in Ammoniak und fällt es durch Zusatz einer Säure als feinstes Pulver wieder aus. Näheres siehe unter Injektion.

A. Saure wässerige Gemische. Sie enthalten entweder freie Säure oder Alaun; in ihnen ist das Karmin nicht unzersetzt vorhanden, und auch nicht alle Karminsäure in Lösung gegangen.

1. Essigsäurekarmin nach A. Schneider. Man löst in kochender Essigsäure von 45% Karmin bis zur Sättigung auf und filtrirt. (In dieser Stärke löst die Säure nach Schneider am meisten Karmin.) Die Lösung verdünnt man entweder auf 1% und benutzt sie dann zum langsamen Färben, oder man giebt sie direkt zu dem lebenden Objekt unter dem Deckglase; alsdann fixirt sie und färbt zugleich. Sie dringt sehr leicht ein und giebt eine reine Kernfärbung, die aber nicht haltbar ist. — Ueber die nachträgliche Behandlung dieser Tinktion mit einem Eisensalz siehe bei Karminsäure die Methode von Zacharias.

2. Ameisensäurekarmin nach Pianese. Wird in ähnlicher Weise angefertigt. Soll für die Färbung der Nerven dienen.

3. Die sogenannten Holzessigfarben von Burchardt, d. h. meist durch Kochen erhaltene Lösungen von Karmin (oder Kochenille oder Hämatoxylin) in Holzessig theils mit, theils ohne Alaun sind nach Rawitz und P. Mayer irrationell und unnöthig. (Näheres siehe Holzessig.)

4. Alaunkarmin nach GRENACHER. Man kocht eine wässerige Lösung von 1—5% (oder auch von beliebiger anderer Stärke) Kali- oder Ammoniakalaun 10—20 Minuten lang mit ½—1% Karmin und filtrirt nach dem Erkalten. Die Lösung hält sich auch mit einem Antisepticum nicht lange unverändert. Im wesentlichen kommt sie einem verdünnten Karmalaun gleich; wie in diesem ist das färbende Princip das Aluminiumkarminat, das beim Kochen des Karmins mit Alaun entsteht. Das Alaunkarmin eignet sich aber nur für Schnitte; man muss diese hinterher mit Wasser gut auswaschen, um keine Alaunkrystalle im Präparat zu haben. Es giebt ungemein scharfe Kernfärbungen.

Nach P. MAYER färbt das Alaunkarmin stärker und mehr nach Roth hin, wenn man 2 Grm. Karmin mit 5 Grm. Alaun und 100 Ccm. Wasser 1 Stunde lang kocht; es ist dann ziemlich stark sauer geworden, indem der Alaun etwas Schwefelsäure abgegeben hat, die aus dem Karmin Karminsäure frei macht. Man erreicht also dasselbe, wenn man dem Alaunkarmin (oder dem Karmalaun) etwas Karminsäure zusetzt.

Unwesentliche und zum Theil auch irrationelle Abänderungen der GRENACHER'schen Formel haben TIZZONI, PISENTI und GRIEB veröffentlicht.

HENNEGUY kocht Karmin in einer koncentrirten Lösung von Kalialaun in Wasser, fügt nach dem Erkalten 10% Eisessig hinzu, lässt einige Tage absetzen und filtrirt. Zum Färben giebt er nur so viel von dem Gemisch zu destillirtem Wasser, dass dieses tief rosa wird, bringt der raschen Diffusion halber die Objekte direkt aus Alkohol hinein, lässt sie 1—2 Tage darin und wäscht sie 1—2 Stunden in destillirtem Wasser aus. Dieses Alaunkarmin soll tiefer eindringen als das gewöhnliche und in der Tiefe ebenso gut wie an der Oberfläche färben.

LEGAL benutzt ein Gemisch von 10 Vol. Alaunkarmin und 1 Vol. gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure zum Färben, indessen ist, da sich die Pikrinsäure nachher leicht ganz auswäscht, dies Verfahren nicht so gut wie die Nachfärbung der nur mit Alaunkarmin gefärbten Schnitte mit Pikrinsäure in Alkohol oder Xylol.

B. Basische oder sogenannte neutrale wässerige Gemische. Da das Karmin in neutralem, d. h. destillirtem Wasser nur ganz wenig löslich ist, so müssen auch die sogenannten neutralen Lösungen stets alkalisch reagiren; es ist also beim Färben darauf zu achten, dass die alkalische Reaktion den Geweben nicht schade. Speciell die Ammoniakkarmine haben die unangenehme Eigenschaft, zwar durch die allmähliche Abgabe des Ammoniaks an die Luft immer weniger alkalisch zu werden, zugleich aber auch Karmin in Pulverform abzusetzen und so an Färbekraft zu verlieren.

1. Ammoniakkarmin. Nach RANVIER löst man Karmin in Wasser und Aetzammoniak, filtrirt die Lösung und überlässt sie dann in einer tiefen Schale der Verdunstung; fault das Karmin dabei, so scheint das nur vortheilhaft zu sein. Das trockene Pulver löst man in Wasser auf und filtrirt die Lösung. Eine Reihe anderer, zum Theil komplicirter Vorschriften siehe unter C.

Das sogenannte karminsaure Ammoniak von HOYER ist nicht dieses, sondern ein trockenes Ammoniakkarmin, das sich in Wasser ohne Weiteres klar lösen muss. Dies thut es aber nur dann, wenn es noch ziemlich viel Ammoniak enthält. Bereitung übrigens komplicirt und theuer.

Aehnlich wie HOYER stellt VAN WIJHE ein trockenes Ammoniakkarmin dar, indem er eine alte starke Lösung von Karmin in Ammoniak mit vielem Alkohol mischt und den dunkelrothen Niederschlag mit Alkohol wäscht und trocknet. Eine frische Lösung soll ein anderes Produkt ergeben, und das Reifen der Lösung auf Oxydation beruhen; koche man daher Karmin mit Wasser, Ammoniak und Wasserstoffhyperoxyd, so erhalte man be-

reits in wenigen Minuten eine Lösung mit den gewünschten Eigenschaften. (Beim Kochen mit Kaliumhypermanganat gehe die Oxydation leicht zu weit.) — Natürlich reagirt das Pulver schwach alkalisch, löst sich trotzdem nicht klar in Wasser und setzt auch später fortwährend ab.

2. Boraxkarmin nach GRENACHER. 2—4 Theile Borax und 1 bis $1^1/_2$ Theile Karmin werden in 200 Theilen Wasser durch Kochen gelöst; die Lösung wird vorsichtig tropfenweise mit verdünnter Essigsäure versetzt, bis sie hochroth geworden ist, und frühestens nach 24 Stunden filtrirt. Schnitte färbt sie bereits in $^1/_2$—3 Minuten, aber ganz diffus, so dass sie mit saurem Alkohol behandelt werden müssen. — Dieses Gemisch ist nie in Aufnahme gekommen, weil das alkoholische Boraxkarmin (s. unten) viel besser wirkt und leichter zu bereiten ist.

3. Lithionkarmin nach ORTH. In koncentrirter wässeriger Lösung von Lithiumkarbonat werden durch Kochen $2^1/_2$—$5^0/_0$ Karmin aufgelöst. Ueberflüssig, macerirt nach P. MAYER stark, wird aber merkwürdiger Weise sogar von Embryologen gebraucht. Behandlung der gefärbten Objekte wie beim alkoholischen Boraxkarmin (s. unten).

4. Magnesiakarmin nach P. MAYER. Die beiden Arten (starkes und schwaches Magnesiakarmin) sind nicht nur relativ konstant, sondern schädigen auch während des Färbens die Gewebe relativ wenig (z. B. lösen die mit Eiweiss aufgeklebten Schnitte nicht los). Das starke wird bereitet, indem man 1 Grm. Karmin und 0,1 Grm. Magnesia usta mit 50 Ccm. destillirten Wassers 5 Minuten lang kocht, filtrirt und mit 3 Tropfen Formol versetzt. Beim Kochen löst sich nicht alles Karmin, aber ein Zusatz von Magnesia bessert das nicht, sondern schlägt nur schon gelöstes nieder (gelöst werden reichlich $1^1/_2{}^0/_0$ Karmin); man halte sich also genau an die Vorschrift. — Zur Bereitung des schwachen Magnesiakarmins löst man 0.1 Grm. Karmin durch halbstündiges Kochen in 50 Ccm. Magnesiawasser, filtrirt und setzt ebenfalls Formol zu. (Das Magnesiawasser gewinnt man, indem man 0.1 Grm. Magnesia usta mit 100 Ccm. Brunnenwasser eine Woche lang unter öfterem Umschütteln in Berührung lässt und beim Gebrauch klar abzieht; es bleibt nur dann alkalisch genug, wenn es auf der ungelösten Magnesia steht.)

Beide Magnesiakarmine halten sich sehr lange klar, das schwache sogar mehrere Jahre. Sie sind sowohl für Schnitte als auch für Objekte in toto zu gebrauchen; das starke färbt aber nicht erheblich stärker als das schwache. Nach dem Färben wäscht man mit Wasser gut aus. Am besten verwendet man übrigens das Magnesiakarmin mit einem Zusatz von Magnesiumpikrat (siehe bei Pikrokarmin).

5. Natronkarmin, fälschlich als karminsaures Natron bezeichnet, wird analog dem HOYER'schen Ammoniakkarmin gewonnen und ist als Pulver bei GRÜBLER & HOLLBORN zu haben.

C. Andere wässerige Gemische (meist veraltet oder kaum in Aufnahme gekommen). Unter dieses Rubrum gehören von den bekannteren: Ammoniakkarmin nach BEALE oder FREY (beide enthalten viel Glycerin und etwas Alkohol, sind auch stark alkalisch); nach HAMANN (»neutrale essigsaure Karminlösung«, d. h. eine Lösung von Karmin in Ammoniak wird mit verdünnter Essigsäure bis zur neutralen oder schwachsauren Reaktion versetzt); Osmiumsäurekarmin nach DELAGE (ein Gemisch von möglichst neutralem Ammoniakkarmin mit $1^0/_0$iger Lösung von Osmiumsäure; frisch bereitet soll es zum Fixiren und Färben zugleich dienen, aber schon nach einigen Tagen nur noch zum Färben); Urankarmin nach SCHMAUS (»karminsaures Natron«, d. h. trocknes Natronkarmin 1 Grm., Urannitrat $^1/_2$ Grm., Wasser 100 Ccm. werden $^1/_2$ Stunde lang gekocht; nach dem Erkalten wird die Lösung filtrirt, sie muss aber noch offen stehen bleiben und schimmeln).

D. Alkoholische Gemische. Die wichtigsten hat GRENACHER eingeführt. In starkem Alkohol ist Karmin nur mit Hilfe von Säure und nicht unzersetzt löslich.

1. Boraxkarmin nach GRENACHER. Man löst in einer 4%igen wässerigen Lösung von Borax durch Kochen 2—3% Karmin auf, setzt das gleiche Volumen Alkohol von 70% hinzu und filtrirt nach längerem Stehen. Die Objekte lässt man in der Lösung, bis sie gut damit durchtränkt sind, eventuell Tage lang, und bringt sie dann, ohne sie auszuwaschen, in Alkohol von 70%, der mit Salzsäure (4—6 Tropfen auf 100 Ccm.) angesäuert ist. Hierin bleiben sie, bis die Farbe sich aus dem Plasma auf die Kerne zurückgezogen hat, was ebenfalls Tage lang dauern kann; sie sehen dann hellroth, durchsichtig aus und kommen nun in neutralen Alkohol. (Ueberträgt man die gefärbten Objekte aus dem Boraxkarmin in schwachen Alkohol oder Wasser, so wäscht sich darin fast der ganze Farbstoff wieder aus; man muss sie also direkt in 70%igen Alkohol bringen; in diesem schlägt sich aber das Karmin ganz diffus nieder und wird erst durch Säuren wieder gelöst, so dass es nun die Kerne tingirt; daher ist ganz richtig gleich saurer Alkohol vorgeschrieben.)

Das Boraxkarmin war eine Zeit lang von den Mitteln zum Durchfärben das gebräuchlichste. Es lässt sich leicht handhaben und giebt eine sehr schöne Färbung. Indessen dringt es nicht so gut durch, wie man gemeiniglich glaubt, und bildet zuweilen im Innern dicker Stücke Präcipitate, die sich auch im sauren Alkohol nicht wieder lösen. Ferner reagirt es alkalisch und eignet sich daher für Zellenstudien nicht. Man ist jetzt auch von seiner Anwendung etwas zurückgekommen.

Rein wässeriges Boraxkarmin macerirt gleich dem Lithionkarmin so stark, dass es für feinere Arbeiten unbrauchbar wird. Unter Umständen nimmt man sogar statt des Gemisches von GRENACHER noch besser das nach MAYER (s. Nr. 2).

Zur Gegenfärbung der Schnitte eignet sich besonders eine schwache Lösung von Pikrinsäure in Benzol.

2. Boraxkarmin nach P. MAYER. Es dient für zarte Objekte und unterscheidet sich vom GRENACHER'schen dadurch, dass es mit stärkerem Alkohol (50—70%) bereitet wird und, weil dieser nur wenig Borax löst (70%iger noch nicht 1/4%, 50—60%iger nur etwa 1%), nicht so stark alkalisch reagirt. Freilich löst sich auch nur wenig Karmin (in Alkohol von 50—60% nur etwa 1%), und so sieht das Boraxkarmin mit 70%igem Alkohol ganz hell aus, aber das ist für kleine Objekte gerade vortheilhaft. Bereitung und Anwendung analog dem Boraxkarmin nach GRENACHER (s. oben).

3. Salzsäurekarmin. Die Vorschrift von GRENACHER ist nicht präcis gefasst und nicht leicht zu befolgen. P. MAYER hat sie etwas genauer formulirt und vereinfacht: 4 Grm. Karmin werden in 15 Ccm. Wasser und 30 Tropfen Salzsäure durch Kochen gelöst; dann fügt man 95 Ccm. Alkohol von 85% hinzu, filtrirt heiss, neutralisirt mit Ammoniak, bis ein bleibender Niederschlag gerade entstehen will, und filtrirt nach dem Erkalten eventuell nochmals. Zum Auswaschen der Objekte dient Alkohol von 80—90%, und wenn man reine Kernfärbung haben will, so muss er mit Salzsäure versetzt sein; auch die Lösung darf man nur mit starkem Alkohol verdünnen, da sonst der Farbstoff ausfällt.

Das Salzsäurekarmin ist nur dann zu brauchen, wenn man die Gewebe aus irgend welchen Gründen nicht in schwachen Alkohol oder gar Wasser bringen darf. Es färbt auch Stücke gut und kräftig durch. Zur Gegenfärbung der Schnitte ist sehr geeignet eine schwache Lösung von Pikrinsäure in Benzol.

4. Mucikarmin nach P. MAYER. Es färbt bei richtiger Bereitung und Anwendung nur den Schleim (Mucin), nicht auch die Kerne, und zwar ziemlich

nach Roth hin. Karmin 1 Grm., Chloraluminium 0,5 Grm. und destill. Wasser 2 Ccm. werden über einer kleinen Flamme etwa 2 Minuten lang erhitzt, bis das Gemisch ganz dunkel geworden ist. Dazu setzt man nach und nach 100 Ccm. Alkohol von 50% und filtrirt 24 Stunden später. Diese Stammlösung gebraucht man aber nur ausnahmsweise entweder direkt oder nach Verdünnung auf $^1/_5$—$^1/_{10}$ mit Alkohol von 50 oder 70%, vielmehr in der Regel mit (destillirtem oder) gewöhnlichem Wasser auf $^1/_{10}$ zu Mucikarmin (Gehalt an Karmin $^1/_{1000}$) verdünnt, und zwar auch nur für Schnitte oder dünne Membranen. (Die Kerne mag man vorher mit Hämalaun färben.) Die Färbung ist in Balsam oder Vosseler's Terpentin unbegrenzt lange haltbar.

Sollten sich auch die Kerne mitfärben, so ist das ein Zeichen davon, dass die Lösung etwas sauer ist (wahrscheinlich ist das Chloraluminium zu sauer), und dann muss man zum Verdünnen der Stammlösung gewöhnliches Wasser nehmen oder wohl gar eine Spur Natriumkarbonat zusetzen (siehe auch unten bei Mucikarminsäure). Ferner kann es vorkommen, dass die Lösung nach einiger Zeit gelatinirt; alsdann muss man etwas mehr Chloraluminium (statt des $^1/_2$ Grm. bis zu 1 Grm.) nehmen. Allerdings färbt sich dann der Schleim langsamer, weniger stark und mehr nach Blau hin.

E. Gemische für Doppelfärbungen. Pikrokarmine. Recht einfach und schon seit lange gebräuchlich ist die Verwendung der Pikrinsäure oder eines ihrer Salze vor, während oder nach der Tinktion der Gewebe mit einem Karmingemisch, z. B. Karmalaun oder Boraxkarmin (s. oben). In der Regel färbt sich dabei das Plasma oder Einlagerungen und Abscheidungen darin gelb, während das Karmin den Kern tingirt. Besonders häufig wurden früher die Pikrokarmine benutzt, jedoch erhält man wohl immer ebenso gute Resultate, wenn nicht bessere, auch durch Vorfärben mit Borax- oder Parakarmin und Nachfärben mit einer Lösung von Pikrinsäure in Alkohol oder Benzol; nur muss man letztere schwach nehmen, da sie sonst leicht zu stark färbt. Genaueres über die Pikrokarmine s. unten.

Ferner wurde früher auch oft verwandt das Gemisch von Borax- und Indigokarmin nach Merkel (fälschlich nach Norris und Shakespeare); es ist aber nach P. Mayer nicht nur unpraktisch in der Zubereitung, sondern auch wegen des vielen Borax stark alkalisch, also schädlich, und auch unnöthig theuer. Man erhält dieselben Resultate durch Färbung mit Karmalaun und Indigkarmin (s. unten bei Karminsäure).

Andere Kombinationen sind: erst Boraxkarmin, dann Jodgrün (in Alkohol gelöst) oder Malachitgrün (ebenso) oder Bleu de Lyon (ebenso); erst Ammoniakkarmin, dann Methylenblau (in Alkohol gelöst) etc. Es würde sich aber nicht lohnen, alle diese Gemische hier näher zu erörtern, da die meisten nur für ganz specielle Zwecke gedient haben, einige noch dazu von ihren Verfertigern nicht genau genug angegeben werden. Dies gilt auch von Strelzoff's Doppelfärbung zum Studium der Ossifikation (Tinktion der Schnitte zuerst mit einer Art Hämalaun, dann mit Ammoniakkarmin; statt des letzteren nimmt man auch wohl ein Pikrokarmin) sowie von Westphal's Dahlia-Alaunkarmin (Gemisch von Alaunkarmin mit Dahlia, Essigsäure, absolutem Alkohol und Glycerin zum Durchfärben von Geweben beim Studium des Blutes).

Pikrokarmine. Es sind Gemische, worin Pikrinsäure, Ammoniak (seltener Natron oder Lithion), Kohlensäure (auch wohl Essigsäure), Karmin und Wasser in durchaus inkonstanten Mengen vorkommen. Zwar nannte Ranvier, der Erfinder des Ammoniakpikrokarmins, dieses geradezu ein Doppelsalz von Pikrinsäure und Karminsäure mit Ammoniak, also Ammoniumpikrokarminat. Das ist aber schon deswegen unrichtig, weil Karmin keine Karminsäure ist, sondern auch Thonerde und Kalk enthält (s. oben pag. 636). Vielmehr ist nach P. Mayer das gewöhnliche Pikrokarmin ein ganz

unsicheres Gemisch von Ammoniumpikrat, Ammoniakkarmin und freiem Ammoniak und wirkt daher oft auf die Gewebe schädlich ein. Enthält es nur wenig freies Ammoniak und auch genug Ammoniakkarmin, so ergiebt es mitunter gute Doppelfärbungen (roth und gelb); indessen seine Verwendung ist nur dann anzurathen, wenn selbst so schwach saure Gemische wie Karmalaun etc. nicht gebraucht werden dürfen, z. B. falls Kalknadeln erhalten bleiben sollen, oder wenn macerirte Gewebe zu färben sind, die nicht schrumpfen dürfen. Da aber die gewöhnlichen Pikrokarmine meist entweder selber zu stark maceriren oder, wenn sie nur wenig freies Ammoniak enthalten, oft nicht distinkt genug färben, so ist das Feld ihrer Wirksamkeit noch enger. — In den Vorschriften wird häufig angegeben, man solle die gefärbten Objekte mit schwacher Säure behandeln, um distinktere Färbungen zu bekommen.

Gewöhnlich wird ein Ammoniakpikrokarmin dadurch hergestellt, dass man eine Lösung von Karmin in Aetzammoniak mit einer Lösung von Pikrinsäure in Wasser so lange mischt, wie noch kein Niederschlag von Karmin entsteht. Ein solches Gemisch enthält freies Ammoniak; letzteres mag in Kontakt mit der Luft wohl theilweise in Ammoniumkarbonat übergehen und so weniger alkalisch wirken, wird aber auch theilweise verdunsten, und in eben demselben Masse wird Karmin ausfallen, sodass nach einiger Zeit das Pikrokarmin an Färbkraft einbüsst. Oder man neutralisirt das Gemisch möglichst genau mit Essigsäure (Weigert), aber das ist schwer ausführbar. Dies gilt auch von der Bereitung des Natronpikrokarmins (Löwenthal's »picrocarminate de sodium«).

Am stärksten färbt ein Pikrokarmin, wenn es entweder selber so wenig alkalisch ist, dass das Karmin gerade ausfallen will, oder wenn die Gewebe oder wenigstens ihre Kerne sauer reagiren oder Salze enthalten. Allerdings ist dann die Färbung stets diffus, und um sie distinkt zu machen, muss man entwedor mit einer ganz schwachen Base (z. B. Magnesiawasser) oder mit Säure (saurem Glycerin oder wie beim Boraxkarmin mit saurem Alkohol) differenziren.

Von den vielen Vorschriften zur Bereitung eines Pikrokarmins seien folgende genauor besprochen.

a) Pikrolithionkarmin nach Orth: das Lithionkarmin (s. oben pag. 638) wird mit der 2—3fachen Menge gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure vermischt. Indessen verlangt nach P. Mayer das sehr stark alkalische Lithionkarmin etwa dreimal mehr Pikrinsäure zur Neutralisirung, als Orth angiebt, und färbt selbst dann nicht besonders gut; genau nach der Vorschrift zubereitet, ist es für feinere Gewebe schädlich.

b) Pikromagnesiakarmin nach P. Mayer. Es muss schwach alkalisch reagiren. Zur Herstellung dient ausser dem Magnesiakarmin (s. oben pag. 638) eine Lösung von Magnesiumpikrat, die man entweder durch Erhitzen von 200 Ccm. einer $^1/_2$%igen wässerigen Lösung von Pikrinsäure mit 0,25 Grm. Magnesiumkarbonat bis zum Kochen, Absetzenlassen und Filtriren, oder durch Lösen von 0,6 Grm. festen Salzes (bei Grübler & Hollborn in Leipzig zu haben) in 100 Ccm. destill. Wassers erhält. Zu 10 Vol. dieser Lösung giebt man 1 Vol. des starken Magnesiakarmins oder mischt gleiche Theile der Lösung und des schwachen Magnesiakarmins mit einander. Gegen Schimmelpilze setzt man etwas Formol zu.

Beide Arten Pikromagnesiakarmin enthalten höchstens $1^1/_2$‰ Karmin, färben aber Schnitte meist schon in einigen Minuten und eignen sich auch zum Durchfärben von Stücken, wirken überhaupt rascher und stärker als die gewöhnlichen Pikrokarmine, die meist viel mehr Karmin enthalten sollen. Will man ausnahmsweise die Flüssigkeit noch schwächer alkalisch haben, so setzt man etwas Pikrinsäure zu (auf 3 Volumina bis zu 1 Vol. $^1/_2$%ige Pikrinsäurelösung).

c) Pikroammoniakkarmin nach van Wijhe. Man löst $^1/_2$% des trockenen Ammoniakkarmins (s. oben pag. 637) in einer 1%igen Lösung von neutralem Ammoniumpikrat, kocht die nicht ganz neutrale Flüssigkeit in einem Kolben so lange, bis sich rothes Lackmuspapier in den Dämpfen nicht mehr bläut, und setzt als Antiseptikum 1% Chloralhydrat zu. — Nach P. Mayer färbt dieses Gemisch, da es nur Spuren von freiem Ammoniak enthält und sich in sogenannter Schwebefällung befindet, relativ stark, aber nicht distinkt genug. Dagegen macerirt es so gut wie gar nicht und gehört daher ohne Zweifel zu den besseren Pikrokarminen. Aber es hält sich ebenso wenig, wie alle anderen Pikrokarmine, die mit Ammoniak bereitet werden.

Litteratur: Grenacher (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), P. Mayer (Mitth. Zool. Stat. Neapel, Bd. 10, 1892), P. Mayer (Ebenda, Bd. 12, 1896), P. Mayer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), P. Mayer (Ebenda, Bd. 16, 1899), Lee und Mayer (Grundzüge, 2. Aufl., 1901, pag. 149 ff. etc.).

Mayer, Neapel.

Karminsäure (nach C. Liebermann wahrscheinlich C_{22} H_{22} O_{13}, genauere Konstitution noch unbekannt) kann aus der Cochenille, wo sie als Alkalisalz vorkommt, durch Fällen des wässerigen Auszuges mit Bleizucker (oder Baryumhydrat), Zersetzen des Karminats mit Schwefelsäure in starkem Alkohol, Eindunsten der alkoholischen Lösung bei niedriger Temperatur, Wiederauflösen in absolutem Alkohol, Fällen mit Aether und Auswaschen des Niederschlages mit Benzol gewonnen werden. Zur Erzielung guter Krystalle ist aber noch die weitere Reinigung durch Auflösen in starker Essigsäure, Verdunsten über Schwefelsäure und Auswaschen mit Aether erforderlich (Liebermann in: Ber. D. Chem. Ges., 33. Bd., 1900, pag. 149). Auch aus Karmin lässt sie sich darstellen. Chemisch rein ist sie im Handel nicht zu haben, annähernd rein und in mikroskopisch kleinen Krystallen liefert sie C. A. F. Kahlbaum in Berlin, und leidlich gut, obwohl nurundeutlich kyrstallinisch, Grübler und Hollborn in Leipzig. Das früher in der Mikrotechnik von Rollett etc. angewandte Karminroth sollte aus der Zersetzung der Karminsäure durch Schwefelsäure entstehen, ist aber nach neueren Untersuchungen wohl mit der Karminsäure identisch.

Gute Karminsäure ist karminroth (die weniger gute ist rothbraun und scheint sich dann, besonders in der Wärme, leicht derart zu verändern, dass sie dunkler wird, zerfliesst und sich nicht mehr klar löst). In Wasser und schwächeren Alkoholen muss sie leicht und klar löslich sein; beim Glühen auf dem Platinblech darf sie keine Asche hinterlassen. Es ist eine dreibasische Säure, die aus Marmor die Kohlensäure austreibt und mit den Alkalimetallen lösliche, mit den Erd- und Schwermetallen hingegen unlösliche Verbindungen liefert, über die noch wenig Genaues bekannt ist. In der Mikrotechnik wird die Karminsäure ausschliesslich zum Färben und auch nur in Verbindung mit Aluminium, Calcium, Eisen, Kalium und Natrium benutzt, und zwar geht man entweder direkt von ihr aus oder bedient sich als Zwischenstufe des Karmins (s. dieses), das im wesentlichen ein Aluminiumcalciumkarminat ist. (Das Zinnkarminat, obwohl in der technischen Färberei früher ungemein wichtig, das Kupferkarminat etc. haben bisher für die Mikroskopie keine brauchbaren Resultate geliefert.) Das sogenannte karminsaure Ammoniak und karminsaure Natron, die zum Injiciren in die Leibeshöhle oder Gefässe von Thieren, aber auch zum Färben dienen, sind nicht diese Salze, sondern lockere Verbindungen des Karmins mit Ammoniak und Soda, heissen daher auch richtig Ammoniak- und Sodakarmin.

Dagegen ist mikrotechnisch von Bedeutung das Aluminiumkarminat (s. unten), und für specielle Fälle mag das Eisenkarminat nützlich sein.

A. Karminsäure mit Kalium oder Natrium. Ist das wirksame Princip in der Cochenilletinktur (s. diese). Beim Färben mit dieser Tinktur muss

aber eine brauchbare Basis, z. B. Thonerde oder Eisen, in den Objekten entweder bereits vorhanden sein oder durch die Fixirung hineingelangen oder eigens durch eine Beize hineingeschafft werden.

B. Karminsäure mit Aluminium. Das Aluminiumkarminat ist in Wasser oder schwachem Alkohol löslich bei Gegenwart von Säuren und sauren Salzen, aber auch von Alkalien und basischen Salzen (z. B. Borax). Man erhält es durch Fällen einer Lösung von Karminsäure (oder Ammoniumkarminat) mit Aluminiumacetat, ferner, aber nur theilweise, mit Chloraluminium, nicht hingegen mit Alaun, da sich das entstehende Aluminiumkarminat sofort wieder zum sogenannten Karmalaun auflöst. — Fällt man die Karminsäure, wie eben erwähnt, mit Chloraluminium aus und setzt dann mehr von letzterem hinzu, so löst sich der Niederschlag ebenfalls wieder auf, und es resultirt eine Lösung, die man zum Färben nehmen mag, wenn man Alaun aus irgend einem Grunde zu vermeiden wünscht. Diese Lösung und das Karmalaun färben übrigens violett, etwa wie Alaunkarmin. Fügt man nun Chlorcalcium zum Karmalaun, so wird sofort der Ton der gefärbten Objekte lebhafter roth; nur bildet sich zugleich durch Umsetzung Calciumsulfat, das unlöslich ist; man mischt daher das Chlorcalcium zweckmässiger mit Chloraluminium und erhält so das Parakarmin. — Ausser dem Karmalaun und dem Gemische von Karminsäure mit Aluminiumchlorid gehören hierher die Mucikarminsäure von Rawitz und die Alauncochenille (s. Cochenille). Alle Gemische, die mit Alaun bereitet werden, besonders stark aber die Alauncochenille, scheiden bald rascher, bald langsamer viel Farbstoff aus, verlieren daher an Färbkraft und müssen eventuell vor dem Gebrauch jedesmal filtrirt werden. Die Haltbarkeit der Färbungen ist wie bei denen mit Karmin.

1. Karmalaun nach P. Mayer. Man löst 1 Grm. Karminsäure und 10 Grm. Kali- oder Ammoniakalaun warm (oder auch bei gewöhnlicher Temperatur) in 200 Ccm. destillirten Wassers, lässt absetzen und giesst ab oder filtrirt, fügt auch ein Antiseptikum zu (am besten 1 Ccm. Formol oder $^1/_5$ Grm. Salicylsäure oder 1 Grm. Natriumsalicylat). Die Lösung ist ziemlich haltbar und färbt selbst die mit Osmium konservirten Objekte durch. Wäscht man hinterher blos mit Wasser aus, so behält das Plasma etwas Farbe zurück; will man also eine ganz reine Kernfärbung haben, so nehme man zum Auswaschen Alaunlösung (und dann muss man diese später wieder mit Wasser fortschaffen) oder in hartnäckigen Fällen eine schwache Säure. Der allgemeine Effekt ist der einer Färbung mit Alaunkarmin; jedoch färbt letzteres im allgemeinen nicht gut durch, Karmalaun hingegen wohl.

Die Objekte, die mit Karmalaun (gewöhnlichem oder schwachem) gefärbt werden sollen, dürfen nicht alkalisch reagiren.

Eine Lösung, die dem Alaunkarmin von Grenacher nahe kommt und nur etwas rother färbt, erhält man aus 1 Theil Karminsäure, 30—50 Alaun und 1000 Wasser (ebenfalls mit einem Antiseptikum).

Das Glycerin-Karmalaun von Rawitz (1 Grm. Karminsäure, 10 Grm. Ammoniakalaun, 75 Ccm. destillirten Wassers, 75 Ccm. Glycerin), nach seinem Erfinder nur für Schnitte empfehlenswerth, gewährt keinen sonderlichen Vortheil vor dem gewöhnlichen Karmalaun, zumal da sich ebenfalls nach einiger Zeit viel Farbstoff absetzt.

Zur Plasmafärbung nach Karmalaun sind geeignet des starken Kontrastes wegen Lichtgrün S. F. oder Indigkarmin, beide in 70%igem Alkohol gelöst (etwa $^1/_2$% oder noch schwächer) oder nach Calleja Indigkarmin (1 Grm.) in gesättigter wässeriger Lösung von Pikrinsäure (400 Ccm.) gelöst. Speciell letztere Procedur soll sehr günstige Resultate für die Unterscheidung von Bindegewebe und Muskeln, analog dem bekannten Verfahren mit Säurefuchsin und Pikrinsäure, geben (s. pag. 544); das Indigkarmin wird

dabei durch rasches Auswaschen der Schnitte mit schwacher Essigsäure (5—6 Tropfen auf 10 Ccm. Wasser) fixirt, während die überschüssige Pikrinsäure durch den absoluten Alkohol ausgezogen wird. Auch kann man folgendes Gemisch von Karmalaun und Indigkarmin zur Doppelfärbung benutzen: 1 Volum einer Lösung (1 : 500) von Indigkarmin in Wasser (oder 5%iger Alaunlösung) und 4—20 Volumen Karmalaun; am besten nimmt man das Indigkarmin recht schwach, weil es sonst leicht überfärbt.

2. Karminsäure und Aluminiumchlorid nach P. Mayer. In 200 Grm. destillirten Wassers löst man 1 Grm. Karminsäure und 3 Grm. Aluminiumchlorid und setzt wie beim Karmalaun ein Antiseptikum hinzu. Verwendung wie Karmalaun; färbt blauviolett, sehr stark und elektiv, aber nicht so exklusiv die Kerne wie jenes. Zu empfehlen nur, falls aus irgend einem Grunde das Karmalaun des Alauns wegen nicht zu gebrauchen ist.

3. Mucikarminsäure nach Rawitz (zum Färben des Schleimes, analog dem Mucikarmin von P. Mayer, s. oben pag. 639): 1 Grm. Karminsäure, 2 Grm. Chloraluminium und 100 Ccm. Alkohol von 50% werden in einer Schale zur Trockne abgedampft, und der Rückstand wird von neuem in derselben Menge Alkohol von 50% gelöst. Verwendung wie beim Mucikarmin. — Nach P. Mayer wird durch das Abdampfen der Lösung das Chloraluminium weniger sauer. Wenn man also von vorneherein etwas Natriumkarbouat oder Thonerdehydrat hinzufügt, so wird die Bereitung der Mucikarminsäure einfacher. Mayer benutzt daher auch wohl ein Gemisch von 1 Theil Karminsäure, 1 Theil Natriumbikarbonat. 2 Theilen Chloraluminium und 200 Theilen Alkohol von 50%, das sich gut hält und den Schleim scharf, allerdings blauviolett färbt, mithin nicht so gut ist wie das Mucikarmin.

C. Karminsäure mit Aluminium und Calcium. Hierher gehören das Parakarmin und die neue Cochenilletinktur von P. Mayer (s. oben pag. 153).

Parakarmin nach P. Mayer. 1 Grm. Karminsäure, 1/2 Grm. Chloraluminium und 4 Grm. Chlorcalcium werden in 100 Ccm. 70%igen Alkohols warm oder kalt gelöst; nach dem Absetzenlassen wird filtrirt. Hellroth, besonders gut zum Durchfärben, kommt einigermassen dem Grenacher'schen Boraxkarmin nahe.

Die Objekte dürfen nicht alkalisch reagiren oder viel Kalk (Spicula, Skelette) enthalten, der zu Niederschlägeu Veranlassung geben würde. In der Regel färbt sich das Plasma etwas mit, aber das ist für Objekte, die geschnitten werden sollen, oder für Schnitte meist vortheilhaft. also wäscht man einfach mit Alkohol von 70% aus. Sollen aber die Objekte ungeschnitten in Balsam kommen, oder braucht man eine präcise Kernfärbung, so setzt man zum Waschalkohol ein wenig Chloraluminium oder etwa 5% Essigsäure von 50% (2 1/2% Eisessig). Färbt man grosse Thiere mit umfangreichen Höhlungen, so verdünnt man am besten das Parakarmin stark mit 70%igem Alkohol, säuert es aber ein wenig an, da sonst leicht etwas Farbstoff ausfällt, besonders wenn die Objekte nicht ganz gut konservirt sind. — Das Parakarmin giebt zwar keine so schön rothen Tinktionen wie das Boraxkarmin, ist aber den Geweben weniger schädlich, dringt auch wegen seines stärkeren Alkohols besser durch. bildet in den Objekten nicht so leicht Niederschläge und hält sich, aus guter Karminsäure bereitet, Jahre lang völlig klar. Auch die Färbungen sind in Balsam oder Vosseler's Terpentin ungemein haltbar.

D. Karminsäure mit Eisen. Im Gegensatze zum Aluminiumkarminat bietet man den Geweben das Eisenkarminat nicht in einer fertigen Lösung dar, sondern lässt es in ihnen erst entstehen, indem man die Eisenlösung und die Karminsäure (auch wohl als Aluminiumkarminat) getrennt einführt. So erhielt Weigert eine braunviolette Färbung der Präparate, die mit Kar-

min gefärbt und mit einem Gemisch von Alkohol und etwas Eisenchlorid ausgewaschen wurden; ferner behandelt PFEIFFER v. WELLHEIM die Süsswasseralgen erst mit einer sehr schwachen Lösung von Eisenchlorid, dann nach gutem Auswaschen mit einer Lösung von Karminsäure und korrigirt die Färbung nach nochmaligem Auswaschen mit schwacher Salzsäure ($^1/_{10}$ bis $^1/_2$ $^0/_0$ig). Als Lösungsmittel und zum Waschen braucht er aber kein Wasser, sondern Alkohol von 50$^0/_0$. — ZACHARIAS färbt die Objekte mit Essigsäurekarmin durch (nach P. MAYER ist hierzu Karmalaun genau so gut), spült sie mit schwacher Essigsäure ab und bringt sie in eine 1$^0/_0$ige Lösung von citronensaurem Eisenoxyd-Ammonium (metallene Spatel etc. sind hierzu nicht zu brauchen, wenn man mit dem Essigsäurekarmin gefärbt hat). Darin bleiben sie, bis sie gut durchtränkt sind, etwa 2—3 Stunden (Schnitte nur wenige Minuten), aber nicht länger, da sie sonst zu schwarz werden. Man wäscht sie dann tüchtig in destillirtem Wasser aus und bringt sie durch Alkohol etc. in Balsam. — DE GROOT endlich wendet ein Karmalaun mit Zusatz einer Spur eines Eisensalzes an: 0,1 Grm. Eisenalaun, 20 Ccm. Wasser, 1 Grm. Karminsäure, 5 Grm. Alaun, 180 Ccm. Wasser (als Antiseptikum Thymol). Eine reine Kernfärbung kommt bei keiner von diesen Methoden zustande, am ehesten noch bei den von DE GROOT.

Litteratur: P. MAYER (Mitth. Z. Stat. Neapel, Bd. 10, 1892), derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), LEE und MAYER (Grundzüge, 2. Aufl., 1901, pag. 149 ff. etc.), RAWITZ, (Anat. Anz., Bd. 15, 1899). Siehe auch die chemischen Mittheilungen von C. LIEBERMANN, MILLER und ROHDE, SCHUNCK und MARCHLEWSKI, WIIL und LEYMANN etc. (Ber. D. Chem. Ges., Bd. 18, 26, 27, 33 etc.)

Mayer, Neapel.

Karyokinese siehe Kerntheilung.

Kautschuk, Gummi elasticum, wird gewonnen aus dem Milchsaft vieler amerikanischer, indischer und afrikanischer Euphorbiaceen und Apocyneen. Es bildet eine weisse, amorphe Masse, die in Wasser und Alkohol unlöslich, in Chloroform, Benzol, Aether, Schwefelkohlenstoff theilweise löslich ist. Um eine vollkommene Lösung zu erhalten lässt man Kautschuk am besten in Schwefelkohlenstoff quellen und fügt dann 10$^0/_0$ absoluten Alkohol zu. Auch Terpentinöl löst den Kautschuk vollständig, doch müssen beide dann absolut wasserfrei sein (den letzteren trocknet man eine Woche lang über Schwefelsäure. das erstere schüttelt man mit 10$^0/_0$ seines Gewichtes an englischer Schwefelsäure oder Chlorcalcium). In der Technik wird der Kautschuk, nachdem er gereinigt ist, mit Schwefel zusammengebracht, meist bei höherer Temperatur »vulkanisirt« und dann zu Schläuchen. Pfropfen etc. verarbeitet. Zum Aufbewahren der in der Mikrotechnik ja so häufig verwendeten Kautschukschläuche, -ballons etc. empfiehlt sich ein grosses Glasgefäss, das in seinem Inneren ein kleines offenes Reservoir mit Petroleum hat. Hart und brüchig gewordene Kautschukschläuche setzt man zunächst Schwefelkohlenstoffdämpfen aus, erweicht sie dadurch und bringt sie dann in das oben erwähnte Gefäss.

Kehlkopf und **Trachea.** Zur Fixation von Kehlkopf und Trachea eignen sich neben absolutem Alkohol besonders Sublimat und Sublimatgemische, wie Pikrinsublimatessigsäure und ZENKER'sche Flüssigkeit. Man kann beide auch bei grösseren Thieren in toto fixiren, muss aber darauf achten, dass sich keine Luftblasen z. B. an den Stimmbändern oder im Ventriculus Morgagni fangen und das Eindringen der Fixationslösung verhindern. Hat man die Wahl, so verwende man möglichst junge Thiere. Bei älteren Thieren muss man immer mit der Möglichkeit von Kalkablagerungen in den Knorpeln rechnen und deshalb für einige Tage in eine Entkalkungsflüssigkeit übertragen.

Als Uebersichtsschnitte empfehlen sich bei kleineren Thieren Frontalschnitte durch den ganzen Kehlkopf. Die Paraffineinbettung muss sehr sorg-

fältig geschehen, da sich das submuköse Gewebe schwer durchtränkt und dann beim Schneiden die Knorpel sehr störende Faltungen zeigen.

Von Färbung empfiehlt sich vor allem die van Gieson-Färbung, welche Epithel, Bindegewebe, Drüsen, Knorpel und Muskulatur vorzüglich different darstellt. Daneben leistet die Weigert'sche elastische Färbung kombinirt mit Pikrofuchsin und die verschiedenen Schleimfärbungsmethoden noch gute Dienste.

Fuchs-Wolfring empfiehlt Hämatoxylin mit Kongonachfärbung für das Studium der Drüsen.

Litteratur: Fuchs-Wolfring (Arch. mikr. Anat., Bd. 52, 1898).

Keimscheiben siehe embryologische Methoden.

Keimung von Pflanzensamen. Grosse Samen, zumal von Leguminosen, werden zweckmässig nicht zu lange zuerst in Wasser in flachen Schalen eingeweicht, z. B. die Saubohnen, Vicia Faba, im Winter nicht mehr als 24 Stunden, im Sommer nicht über 12 Stunden, Erbsen, Pisum, nicht über 4 Stunden, ebensolange Kürbissamen. Sie werden dann in eine nicht zu flache ziemlich warm stehende Holzkiste ausgesäet, die mit stark angefeuchteten, gut zerriebenen lockeren Sägespähnen angefüllt ist, und fingerbreit ebenso zugedeckt; darüber wird noch ein Holzdeckel gelegt. So haben Saubohnen und Kürbissamen nach etwa 4 Tagen, Erbsen nach 2—3 Tagen ziemlich lange Wurzeln. Kleine Samen legt man zur Keimung zwischen feuchtes Fliesspapier in zugedeckten Glasschalen aus. *Magnus*, Berlin.

Keratine siehe Zellchemie.

Keratohyalin siehe Haut.

Kernchemie siehe unter Zellchemie.

Kernschwarz. Ein von Platner empfohlener Farbstoff unbekannter Zusammensetzung, es soll eine Metallbase gebunden an eine organische Säure sein (nach P. Mayer ist es eine Eisentinte). Es ist nur in Lösung zu beziehen. Die verdünnte Lösung färbt nur Kerne und Achsencylinder, die koncentrirte auch das Protoplasma, Bindegewebe und Markscheide. Zum Differenziren dienen Alkalien oder saurer Alkohol. Lee benützt auch das Kernschwarz als Plasmafarbstoff, er färbt Flemmingschnitte 2 Stunden in Kernschwarz, differenzirt 2 Minuten in verdünntem Lithionkarbonat, färbt dann in koncentrirter wässeriger Lösung von Viktoriablau, dann differenziren in Alkohol, Oel, Balsam.

Kerntheilung, thierische. Zum Studium von Kerntheilungsfiguren eignen sich vor allen Dingen die Gewebe von Embryonen oder jungen, kräftig wachsenden Thieren. Das klassische Material bilden in dieser Beziehung die Larven von Salamandra maculata oder von anderen caudaten Amphibien, wie Triton oder Siredon. Giebt man den im Mai eingefangenen, trächtigen Weibchen von Salamandra in einem geräumigen Terrarium Gelegenheit, in frisches, womöglich fliessendes Wasser zu gehen, so werden sehr bald die Larven in grösserer Anzahl abgesetzt. Man isolirt dieselben bald nach dem Absetzen in weissen Porzellanschalen und füttert sie am besten nach Häcker mit Tubifex oder, wenn sie schon etwas grösser sind, mit kleinen Regenwürmern. Daphnien sollen sich weniger zur Fütterung eignen.

Will man möglichst zahlreiche Mitosen haben, so lässt man die Larven erst einige Tage hungern und füttert sie dann recht reichlich mit Tubifex. Am vierten Tage nach der Fütterung werden sie getödtet (Häcker). Das letztere geschieht einfach durch Einlegen in Flemming'sche Flüssigkeit. Nachdem die Thierchen abgestorben sind, wird der Bauch aufgeschnitten, die Ein-

geweide vorsichtig hervorgezerrt und die Thiere wiederum für mehrere Tage, eventuell auch Wochen und Monate in dieselbe Flüssigkeit eingelegt.

Von anderen Fixationsflüssigkeiten kommen noch in Betracht $^1/_{10}$—$^1/_8$%iges wässeriges Platinchlorid für 24 Stunden (Rabl), Platinchlorid-Osmiumsäure (16 Theile 1%iges Platinchlorid und 4 Theile 2%ige Osmiumsäure) 24 Stunden lang (van der Stricht), Hermann'sche Flüssigkeit mehrere Tage lang.

Diejenigen Theile der Larve, welche die meisten Mitosen enthalten und sich am besten zur Untersuchung eignen, sind die Epidermis, die Lungen, die Mundbodenplatte oder die Kiemenblättchen, feine Knorpelblättchen und das parietale Bauchfell.

Die Epidermis kann man an den fixirten und ausgewaschenen Larven leicht mit einer Pincette abziehen. Störend wirkt hier das Pigment, das jedoch, wenn man in der oben angegebenen Weise verfährt und die Larven in einer weissen Porzellanschale und an einem warmen Ort hält, sich möglichst reducirt. Noch besser eignet sich die Cornea, die man eben so leicht mit der Pincette entfernen kann. Zur Färbung der Epidermisfetzen nimmt man am besten Hämatoxylin.

Von den Lungen sucht man die heraus, deren Wandungen möglichst eben und glatt aufeinanderliegen, schneidet sie heraus und kerbt mit einem scharfen Skalpell beiderseits ein schmales Streifchen des Lungenrandes ab. Man kann dann die beiden Flächen als dünne Häutchen von einander abziehen und färben (Flemming). Will man ungefärbt konserviren, so hebt man in einer Mischung von gleichen Theilen Wasser, Alkohol und Glycerin auf, in der das Material noch lange färbbar bleibt.

Auch die Kiemenblättchen ergeben sehr schöne Präparate, sie sind ausserordentlich dünn, liegen im Innern der Mundhöhle und sitzen den Kiemenknorpelleisten auf.

Die Mundbodenplatte kann man nach Entfernung des Oberkiefers umschneiden und mit der Pincette abziehen.

Aber auch, wenn man die ganzen Larven in Paraffin einbettet und in Schnittserien zerlegt, wird man in fast allen Organen zahlreiche Mitosen finden. Färbung mit Safranin oder mit Eisenhämatoxylin oder nach der Flemming'schen Dreifachfärbung.

Ein anderes viel benütztes Objekt zum Studium der Zelltheilung ist der Hoden der erwachsenen Salamandra. (Näheres darüber siehe bei Hoden.)

Um Totalpräparate von Säugethiermitosen zu erhalten, empfiehlt Solger das Amnion der Ratte (Fixation in Pikrinsäure), Bianchi das Amnion der Maus. Für Schnittpräparate bietet der Darm der weissen Maus in seinen oberen Abschnitten ein recht gutes Objekt. Hier finden sich immer bei gut gefütterten Thieren in den Lieberkühn'schen Krypten zahlreiche Mitosen. Fixation in Hermann, Flemming, Zenker oder Bichromat-Essigsäure nach Tellyesniczky.

Von Wirbellosen empfiehlt Löwenberg den Mitteldarm von Helix pomatia. Man nehme die Thiere im Frühjahr vorzeitig aus dem Winterschlaf, halte sie einige Tage im Arbeitszimmer, entferne den Deckel und füttere die Thiere nach dem Hervorkommen reichlich mit Kohlblättern. Drei Tage nach der Fütterung werden die Thiere getödtet und mit Flemming fixirt.

Ueber die Mitosen in den befruchteten Eiern von Ascaris und Cyclops vergleiche man die Artikel Würmer und Arthropoden.

Litteratur: Flemming (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), Häcker (Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre, Jena 1899), Hermann (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), Rabl (Anat. Anz., Bd. 4, 1889), Solger (Arch. mikr. Anat., Bd. 33, 1889), Löwenberg (Verh. biol. Ver. Stockholm, Bd. 4, 1892).

Kerntheilung bei Pflanzen, siehe unter Pflanzliche Kerntheilung.

Kieselsäure in Pflanzen. In den Zellmembranen, hauptsächlich auch in den Haaren vieler höherer Pflanzen (Brennhaare von Urtica, Sternhaare von Deutzia scabra), ebenso in denen der Diatomeen ist reichlich Kieselsäure inkrustirt. Bei reichlichen Mengen, und wo es auf die Strukturfeinheiten ankommt, geschieht der Nachweis wie bei der Präparation der aus Diatomeenschalen gefertigten Testobjekte (s. Diatomeen), sonst einfach durch Glühen des Objekts zusammen mit einem Tropfen koncentr. Schwefelsäure, bis die Asche schneeweiss geworden, oder ganz auf feuchtem Wege, indem man zuerst das Objekt mit koncentrirter Schwefelsäure bis zur vollständigen Schwärzung behandelt und dann 20%ige Chromsäure zufügt (Miliarakis).

Bei kieselsäurearmen Objekten hat einer vorsichtigen Vorbehandlung mit Salpetersäure ein vorsichtiges Glühen zu folgen. Reine Kieselskelette müssen sich mit Fluorwasserstoffsäure lösen, ebenso wie die Kieselsäure durch Fluorwasserstoffsäure aus der Membran entfernt wird (s. Diatomeen).

Litteratur: Miliarakis (Die Verkieselung lebender Elementarorgane bei den Pflanzen, Würzburg, 1884), Zimmermann (Bot. Mik., 1893). *Magnus*, Berlin.

Kieselschwämme siehe Cölenteraten.

Kirschgummi (Cerasin), das aus dem Stamme der Obstbäume ausschwitzende Gummi, enthält die Salze des Arabins und des Metarabins, die ersteren lösen sich in Wasser, die letzteren nicht.

Eismond setzt eine dicke Lösung von Kirschgummi dem Wasser zu, das kleine, sich lebhaft bewegende Wasserthiere enthält, und lähmt dieselben dadurch mechanisch. (Vergl. auch Zellmembranen, pflanzliche.)

Litteratur: Eismond (Zool. Anz., Bd. 13, 1890).

Kittsubstanzen siehe Intercellularbrücken und -lücken, siehe auch Silberimprägnation.

Klebermehl siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Knochen und Zähne, Methoden zur Untersuchung derselben.

A. Entkalkung. Um organische Gebilde, welche anorganische Bestandtheile in grösserer Menge enthalten, in einen schnittfähigen Zustand zu überführen, ist die möglichst schonende Entfernung der letzteren nothwendig.

Bei der Entkalkung hat man es mit der Auflösung und Entfernung von Kalksalzen aus Knochen, Zähnen oder verkalkten Weichgeweben verschiedener Art zu thun. Zu diesem Zwecke können nur Säuren verwendet werden. Diese lösen jedoch nicht nur die Kalksalze, sondern bewirken auch bedeutende Veränderungen an den Weichtheilen, bringen besonders kollagenes Bindegewebe, welches bei Knochen und Zähnen die Hauptmasse der organischen Grundlage ausmacht, zur Quellung bis zur Unkenntlichkeit.

Um den schädlichen Nebenwirkungen der kalklösenden Säuren zu begegnen, muss man die zu entkalkenden Gewebe 1. von vornherein in einen Zustand versetzen, welcher die Weichtheile schützt und 2. gleichzeitig mit den Säuren Mittel einwirken lassen, welche der Säurequellung entgegen arbeiten. Den ersten Zweck sucht man durch eine vorhergehende gute Fixirung oder Härtung des Objektes zu erreichen; den zweiten durch Anwendung der Säuren in Mitteln, welche für sich allein eine der Quellung entgegengesetzte Wirkung haben, d. h. eine Schrumpfung hervorrufen. Die in den entkalkten Objekten enthaltene Säure ist den meisten Färbungen, welche man allenfalls an den Schnitten ausführen will, hinderlich; andererseits kann die zurückbleibende Säure beim einfachen Auswässern derselben noch nachträglich ihre schädlichen Wirkungen geltend machen.

Aus diesen allgemeinen Erörterungen ergeben sich für die Entkalkung einige leitende Grundsätze: 1. Der Entkalkung soll niemals frisches, sondern nur gut fixirtes oder erhärtetes Material unterzogen werden. Dazu ist allerdings zu bemerken, dass eine grosse Anzahl unserer besten Fixirungsmittel ebenfalls aus Säuren oder Säuregemischen bestehen und dann gleichzeitig fixirend und entkalkend wirken können. Diese Entkalkungsmethode ist jedoch nur auf kleinste Gewebestücke anwendbar und hat deshalb, sowie aus anderen Gründen (schädliche Einwirkung der entweichenden Kohlensäure auf die noch unfixirten Gewebe (FOL[43]), schlechte Färbbarkeit bei dem nothwendig langen Verweilen in den meist wenig kalklösenden Fixirungsflüssigkeiten u. s. w.) nur einen beschränkten Werth. Ernstlich in Betracht zu ziehen ist da nur das FLEMMING'sche Gemisch (siehe Chromsäuregemische). 2. Starke (Mineral-) Säuren sollen niemals in einfach wässeriger Lösung angewendet werden, sondern nur mit einem der Quellung entgegen wirkenden Zusatze. Diese Zusatzflüssigkeiten sind für eine gute Entkalkung von grösster Wichtigkeit. Eine Ausnahme macht da die Salpetersäure (siehe diese). 3. Der Entkalkung muss man stets eine möglichst sorgfältige Entsäuerung der Gewebestücke durch Auswaschen in grossen Mengen der Zusatzflüssigkeit oder vorsichtige Neutralisirung folgen lassen. 4. Man soll stets grosse Mengen der frischbereiteten Entkalkungsflüssigkeit anwenden, die Flüssigkeit häufig wechseln und umschütteln (etwa automatisch, z. B. mittels des von THOMA* angegebenen Apparates) oder das zu entkalkende Stück in der Flüssigkeit suspendiren, z. B. in dem von mir** empfohlenen Platinkörbchen. Alles dies dient zur Beschleunigung der Entkalkung und sollen die Stücke selbstverständlich nicht länger als nöthig in den Säuregemischen verweilen.

Bei der Beurtheilung der Nebenwirkungen der zur Entkalkung verwendeten Säuren wird man die neuesten Untersuchungen von ZACHARIADÈS*** über das Verhalten des kollagenen Gewebes gegenüber Säuren von verschiedenem Procentgehalt nicht ausser Auge lassen dürfen. Dieser Autor macht darauf aufmerksam, dass z. B. die Wirkung der Salpetersäure sehr verschieden sei, je nach dem Koncentrationsgrade. Koncentrirte Säure bewirke eine Schrumpfung; bei Anwendung 10%iger Säure bleiben die Fibrillen der Sehne sichtbar, dieselbe wird aber hart und durchsichtig. Stärkere Verdünnung der Säure bedinge eine zunehmende Quellung, deren Maximum bei einer Verdünnung von 1 : 5000 eintritt. Aehnliche Verschiedenheiten nach dem Procentgehalt zeigen sämmtliche untersuchte Säuren. Ich habe die Angaben von ZACHARIADÈS an einer Reihe von Säuren, beziehungsweise Entkalkungsflüssigkeiten nachuntersucht und berichte darüber weiter unten.

Zur Entkalkung werden sowohl anorganische als organische Säuren verwendet und lassen sich dieselben nach ihrer Wirkung in rasch, energisch und langsam, schonend entkalkende eintheilen. Diese Unterschiede in der Wirkung decken sich nicht mit der verschiedenen chemischen Natur der Säuren; ganz allgemein kann man nur sagen, dass Mineralsäuren die stärkste entkalkende Wirkung besitzen, während die organischen Säuren (nach ZACHARIADÈS die Ameisensäure) die stärkste Quellung hervorrufen.

Ich lasse nun die gebräuchlichen Entkalkungsmittel in alphabetischer Reihe folgen; einige derselben werden nur der Vollkommenheit wegen angeführt, ohne besonderen praktischen Werth zu besitzen. Zusammenfassende Darstellungen und zum Theil kritische Besprechungen der Entkalkungsmittel siehe bei BUSCH[21]), HAUG[52]), J. SCHAFFER[121]) und P. ZIEGLER.[152])

* Ein Apparat zum raschen Fixiren und Erhärten von Gewebetheilen (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897, pag. 333).

** Eine Vorrichtung zum raschen Entwässern histologischer Objekte (Ebendort, Bd. 16, 1899, pag. 422).

*** Sensibilité du tendon aux acides (C. R. soc. biol. Paris, T. 52, 1900, pag 251—253); Des actions diverses des acides sur la substance conjonctive (ebendort, pag. 1127).

1. Ameisensäure bewirkt, wie eben erwähnt, die stärkste Quellung des kollagenen Gewebes. Sie kann daher nur nach Anwendung sehr energischer Härtungsmittel zur Entkalkung verwendet werden. FOL [43]) empfiehlt vorhergehende Fixirung in starker Osmiumsäure. Auch nach Goldchloridbehandlung kann sie als Entkalkungs- und Reduktionsmittel zugleich in Betracht kommen (COLQUHOUN [26]). LEPKOWSKI [75]) hat zur gleichzeitigen Färbung und Entkalkung des Zahnbeins ein Gemisch von Goldchlorid (6 Theile einer 1%igen Lösung) und Ameisensäure (3 Theile reiner, koncentrirter) vorgeschlagen, in dem das Goldchlorid theilweise auch der Quellung entgegenzuwirken scheint. Die von mir verwendete Säure hatte ein specifisches Gewicht von 1,2 und entkalkt das Gemisch 1—1½ Mm. dicke Zahnbeinscheiben (Mensch) gut in 24 Stunden.

PANSINI [95]) hat Ameisensäure zur Entkalkung der Selachierwirbel vor der Vergoldung angewendet. RÖMER [107]) giebt ihr für die Entkalkung von Zähnen vor allen anderen den Vorzug. Höchstens 2 Mm. dicke Scheibchen werden in 33⅓%ige wässerige Säure gelegt und nach 5—8 Tagen, in welchen die Säure dreimal zu erneuern ist, 24 Stunden lang in destillirtem Wasser ausgewaschen. Für dünnere oder weniger stark verkalkte Schnitte genügen 2—3 Tage. Um Zähne nach der Entkalkung nach GOLGI zu färben, entkalkt er in gleichen Theilen MÜLLER'scher Flüssigkeit und 33⅓%iger Ameisensäure. Nach meinen Erfahrungen verdient die koncentrirte, also cirka 90%ige Säure den Vorzug, da sie rascher entkalkt und weniger quellen macht. Das Auswaschen in Wasser (Verdünnung der Säure) steigert die Quellung bedeutend und ist daher direktes Uebertragen in starken Alkohol besser.

2. Arsensäure wurde in 4%iger Lösung, die auf 50° C. zu erwärmen ist, von MARTINOTTI [80]) empfohlen. SQUIRE [127]) verwendet sie auf 30 bis 40° erwärmt.

3. Chromsäure, Chromsäuregemische und chromsaure Salze. Reine Chromsäure besitzt eine sehr geringe entkalkende Wirkung; bei längerer Einwirkungsdauer setzt sie die Färbbarkeit der Präparate bedeutend herab und endlich ruft sie in stärkeren Lösungen beträchtliche Schrumpfungen hervor. Sie soll daher nach BUSCH [21]) höchstens in 1%igen Lösungen für wenig kalkhaltige Gewebe (fötale oder sehr jugendliche Knochen) angewendet werden. WALDEYER [142]) hat ¼—1%ige Chromsäure zur Entkalkung der Schnecke empfohlen. Aber selbst bei Anwendung stärkerer Lösungen (2% nach THIERSCH) dauert die Entkalkung Monate.

Besser eignet sich die Chromsäure vermöge der Schrumpfung, welche sie bewirkt, als Zusatzflüssigkeit zu anderen, energischer entkalkenden Säuren. Zu diesem Zwecke scheint sie zuerst von H. MÜLLER [88]) und ROLLETT [112]) mit Salzsäure gemischt worden zu sein. PRITCHARD [199]) und WALDEYER [142]) haben dann zur Entkalkung der Schnecke ½%ige Chromsäure, ersterer mit einem Zusatz von ½—1%, letzterer mit 2% Salpetersäure empfohlen. BAYERL [9]) verwendete 3%ige Chromsäure und 1%ige Salzsäure zu gleichen Theilen; FLEMMING [39]) ein Gemisch von Chromsäure, Salzsäure und Spiritus.

Für sehr zarte Objekte empfiehlt HAUG [52]), ohne seines Gewährsmannes FLESCH [40]) zu gedenken, Chromosmiumsäure: 1%ige Osmiumsäure 10,0, 1%ige Chromsäure 25,0, Wasser 65,0. Nachbehandlung mit 70%igem Alkohol im Dunkeln. Auch 1%ige Chromsäure mit 1% Salzsäurezusatz (schon von BUSCH empfohlen) wirkt nach diesem Autor schonend und rascher.

BUSCH verwendet zur Entkalkung jugendlicher Knochen 1—2%ige Salpetersäure mit Zusatz von $\frac{1}{10}$% Chromsäure oder 1% chromsauren Kali. FOL [43]) giebt eine Formel von SEILER: 1%ige Chromsäure 70,0, Salpetersäure 3,0, Wasser 200,0.

Nach ZIEGLER[152]) entkalkt Chromsalpetersäure (1 %ige Chromsäure mit 1—5 % Salpetersäurezusatz) rasch, die Färbbarkeit bleibt gut, die Zellen schrumpfen aber stark.

Das nach ZIEGLER von BARTH und ENDERLEN zur Entkalkung empfohlene FLEMMING'sche Gemisch soll nur durch den geringen Gehalt an Chromsäure wirken. Dies ist nicht zutreffend; der stärkere Entkalkungsfaktor ist die Essigsäure und giebt das zuerst von VAN DER STRICHT[138]) und mir[121]) empfohlene FLEMMING'sche Gemisch, auf kleine Stücke angewendet, bei häufigem Wechsel der Flüssigkeit ausgezeichnete Bilder. Bei längerer Einwirkungsdauer (Monate) vermag sie auch grössere Knochenstücke unter guter Erhaltung der Textur zu entkalken.

Auch einfache Chromessigsäure (1 %ige Chromsäure, der man nach Bedarf wiederholt Essigsäure zusetzt) vermag in cirka 14 Tagen ein menschliches Felsenbein unter Erhaltung guter Färbbarkeit zu entkalken, wie die vom Grafen SPEE auf dem Anatomenkongress in Bonn 1901 demonstrirten Präparate bewiesen.

Die MÜLLER'sche Flüssigkeit vermag bei der nothwendigen langen Einwirkungsdauer fötale Knochen, die nicht zu gross sind, in einen schnittfähigen Zustand überzuführen, ohne jedoch, wie HAUG meint, zugleich fixirend zu wirken. Ihr schlechter Einfluss auf die Zellkerne ist bekannt. Ihre geringe, aber sehr schonende entkalkende Wirkung kann nach HAUG durch Zusatz von Salpetersäure ($^1/_3$—$^1/_2$ %) erhöht werden. SCHMORL[123]) setzt 3 % Salpetersäure zu.

Zur Entkalkung stark verkalkter und grösserer Objekte ist die MÜLLER-sche Flüssigkeit untauglich. Auf der unvollkommen entkalkenden Wirkung dieser Flüssigkeit beruht die von POMMER[98]) nachgewiesene Eigenthümlichkeit, dass an bereits gut schneidbar gewordenen Knochen aus MÜLLER'scher Flüssigkeit der Unterschied zwischen den (bereits vor der Entkalkung) kalkhaltigen und kalklosen Partien deutlich ausgeprägt bleibt.

4. Citronensäure, die von PARTSCH[97]) und P. ZIEGLER untersucht worden ist, wirkt nach letzterem Autor gut, ähnlich wie Phosphorsäure (s. diese), aber weniger günstig auf die Zellen.

5. Essigsäure besitzt nach BUSCH eine ziemlich bedeutende entkalkende Kraft, macht aber wie alle organischen Säuren stark quellen. Sie soll daher nur mit einer Zusatzflüssigkeit, die der Quellung entgegenwirkt, verwendet werden. P. ZIEGLER nimmt dazu gesättigte Kochsalzlösung, der er 10 % Essigsäure zusetzt. Zellen gut erhalten, gut färbbar, aber geschrumpft. Diese Schrumpfung kommt natürlich auf Rechnung der Fixirung vor der Entkalkung. Ein Gemisch von gesättigter Kochsalzlösung in Wasser und koncentrirter Essigsäure von 1,06 spec. Gewicht zu gleichen Theilen entkalkt langsam, aber schonend, ohne Quellung oder Schrumpfung.

Graf SPEE verwendet als Zusatz Chromsäure (s. diese). J. HART[49]) empfiehlt 6 %igen Eisessig, welcher dünne Zahnschliffe in cirka 10 Stunden entkalkt (bei CHOQUET[24]), pag. 81, falsch wiedergegeben); ein ganzer Zahn (Milcheckzahn mit weit offener Wurzel) braucht zur Entkalkung 60 bis 65 Stunden.

6. Holzessig (Acidum pyrolignosum purum) in unverdünntem Zustande bewirkt ziemlich starke Quellung und entkalkt langsam, so dass er nur für fötale und kleine Knochen in Betracht käme

7. Milchsäure in 10 %iger Lösung wird von HAUG und P. ZIEGLER als langsam, aber gut und schonend wirksam, was Zellen und Färbbarkeit anlangt, bezeichnet. Rothe Blutkörperchen werden stark ausgelaugt. Nach BUSCH bewirkt sie starke Quellung.

8. Phosphorsäure wurde zur Entkalkung jugendlicher Knochen zuerst von STRELZOFF[132]) empfohlen. HAUG, der sie in 10—15 %iger Lösung

verwendet, findet die Entkalkungsdauer relativ lang, die Färbbarkeit nicht immer sehr gut. P. Ziegler hingegen empfiehlt sie sehr. 10%ige Lösung vermag einen Meerschweinchenhumerus in 6 Tagen zu entkalken; keine wesentliche Schrumpfung, gute Färbbarkeit. Ich finde im Gegentheil, dass die Phosphorsäure eine ziemlich beträchtliche Quellung bewirkt, und zwar verdünnte (10%ige) Lösung mehr als koncentrirte (spec. Gewicht 1,3). Diese Quellung nimmt mit der Dauer der Einwirkung zu; Entkalkungsfähigkeit gering.

9. Pikrinsäure in gesättigter wässeriger Lösung von Ranvier[100]) empfohlen. Sie wirkt sehr langsam [die Tibia des Neugeborenen braucht etwa 3 Wochen zur Entkalkung (v. Kahlden[59])] und dringt wenig tief ein; da sie aber auch gleichzeitig ein Fixirungsmittel ist, giebt sie für ganz kleine oder wenig verkalkte Objekte sehr gute Bilder. Zur rascheren Entfernung der Pikrinsäure aus den Geweben setzt man dem Alkohol, in den die Stücke nach der Entkalkung kommen, Lithium carbonicum in Substanz oder in gesättigter wässeriger Lösung zu (Jelinek*). Zusatz von 3—5%iger Salpetersäure (Fol, Haug) beschleunigt die Wirkung. Nach P. Mayer[74]) wirken Pikrinsalz- oder Salpetersäure so rasch, dass die reichliche Entwicklung von Kohlensäure oft mechanisch das Gewebe verletzt. Pikrinschwefelsäure ist wegen der Bildung von Gypskrystallen nicht zu verwenden, auch nicht zur (von Fol empfohlenen) Fixirung kalkhaltiger Gewebe.

10. Salpetersäure wurde zur Entkalkung von Knochen schon von J. Gerlach[47]) und Boll[12]) empfohlen; nachdrücklicher später von Strelzoff[132]), der ihr nachrühmte, dass sie schnell entkalke und keine Quellung verursache. In der That ist sie eines unserer besten Entkalkungsmittel, da sie auch Zellen- und Kernstrukturen, sowie die Färbbarkeit gut erhält. Was die auch von Busch ausgesprochene Meinung anlangt, dass sie durchaus keine Quellung hervorrufe, so ist dies mit Vorbehalt zu nehmen.

Wie aus den angeführten Erfahrungen von Zachariadès hervorgeht, hängt der Grad der Quellung, welche die wässerige Säuremischung hervorruft, von der Koncentration der Säure ab und hat schon Busch rein empirisch beobachtet, dass längeres Verweilen in verdünnter Säure mehr schadet als kurzes in 10%iger. Ich habe über die Quellungserscheinungen, welche die Salpetersäure besonders an kollagenem Gewebe hervorruft, ausgedehnte Versuche angestellt, deren praktische Ergebnisse weiter unten angeführt werden sollen.

Eine Reihe von Autoren empfiehlt einfach wässerige Lösungen der Säure zur Entkalkung.

Busch[21]) verwendete chemisch reine Salpetersäure vom spec. Gew. 1,25, die er mit Brunnenwasser auf 10 Volumprocente verdünnte. Für zarte Knochen geht er auf 1% und darunter, was nach Gewichtsprocenten einer Säure von 0,4 und darunter entspricht. Boll[12]) empfiehlt eine 5—10%ige, besonders aber die 5%ige Lösung der officinellen Säure. Haug[52]) wählt 3—9%ige Lösungen der reinen Säure (spec. Gew. 1,5—1,2); nach Ziegler[152]) entkalkt 5%ige Lösung ziemlich rasch, ohne zu starke Quellung hervorzurufen, erhält Zellen- und Kernstrukturen gut, ebenso die Färbbarkeit, nur schrumpfen die Zellen. Zagelmaier[151]) entkalkte in 10%iger Salpetersäure mit »sehr gutem Erfolg«. Hopewell-Smith[55]) empfiehlt 1%ige Lösung; Stöhr[131]) nimmt 9—27 Ccm. Säure vom spec. Gew. 1,18 auf 300 Wasser (0,9—2,7 Gewichtsprocente); für zartere Objekte 1 Ccm. auf 90 Theile Wasser, was einer Säure von 0,33 Gewichtsprocenten entspricht.**

Die Mehrzahl der Autoren verwendet die Salpetersäure gemischt mit quellungshemmenden Mitteln verschiedenster Art.

* Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 11, pag. 242, 1894.

** Die Reduktion der Angaben verschiedener Autoren auf einen vergleichbaren Massstab, als welcher doch nur der Gewichtsgehalt an Säure gelten kann, ist bei der Ungenauigkeit vieler Angaben schwer möglich. Häufig wird z. B. von einer 5%igen Säure gesprochen, während es sich um 5 Volumprocente einer Säure handelt, deren spec. Gew. nicht angegeben wird.

Chromsäure (s. d.); die geringen Zusätze an Salpetersäure sollten die schwache entkalkende Wirkung der Chromsäure unterstützen (Pritchard[97]), Waldeyer[142]), Busch[21]), Seiler, Ziegler[152]).

Kochsalz in (der viel zu schwachen) $^1/_2$%igen Lösung von Haug[52]) oder mit Alkohol kombinirt nach seiner Formel: Salpetersäure (spec. Gew. 1,5—1,2) 3—9, 70% Alkohol 100, Kochsalz 0,25. Ziegler nimmt ein Gemisch von gesättigter Kochsalzlösung von 95%igem Alkohol zu gleichen Theilen, dem er 5% Salpetersäure zusetzt.

Alaun von Gage[45]) in gesättigter, wässeriger Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und 5% Salpetersäure.

Formol; Schmorl[123]) empfiehlt 20 Theile Salpetersäure auf 100 Formol (d. h. 10 Volumprocente des käuflichen Präparates). Fischoeder[38]) 5—10%ige Salpetersäure-Formollösung; v. Kahlden[59]) 10%ige Formollösung, der 5% Salpetersäure zugesetzt sind. Vor dem Färben ist es gut, die Schnitte auf eine Stunde in 1%ige Sodalösung zu bringen.

Alkohol; Thoma[134]) war der erste, welcher den Salpetersäure-Alkohol zu einer exakten Entkalkungsmethode verwerthet hat. Er bringt die Knochen in ein Gemisch von fünf Raumtheilen 96%igen Alkohols auf einen Raumtheil officineller*, reiner, koncentrirter Säure, das öfter zu erneuern ist. Auch umfangreiche Stücke sind in zwei bis drei Wochen vollständig kalkfrei. Von besonderem Werthe ist das weitere Verfahren, das Thoma zur vollständigen Entsäuerung der Objekte eingeschlagen hat. Die Stücke werden in Alkohol abgespült und in reinen 95—96%igen Alkohol übertragen, der präcipitirten, kohlensauren Kalk (officinell)** [Rousseau[115]) benützt Kreidepulver] im Ueberschuss enthält. Darin werden die Objekte (bei häufigem Umschütteln und mehrmaligem Wechsel) in 8—14 Tagen vollkommen säurefrei, ohne mit Wasser in Berührung zu kommen. Die Methode hat Ziegler keine guten Resultate ergeben; er fand die Zellen stark geschrumpft, schlecht färbbar, die Stücke werden ganz brüchig. Letzteres kann bei grösseren Stücken, die lange in der Mischung weilen müssen, eintreten, wenn man nicht fleissig wechselt. Die Färbbarkeit finde ich gut, die Schrumpfung der Zellen bezieht sich auf die vorhergehende Fixirung. Aber die Dauer der ganzen Procedur ist eine sehr lange und die Schrumpfung beträchtlich. Dadurch wird das Objekt auch schwerer schneidbar. Gage[45]) entkalkt in 67%igem Alkohol (95%iger Alkohol 66 Theile, Wasser 33 Theile), Lee und Mayer[71]) in 70%igem Alkohol mit 3% Säuregehalt: P. Mayer[74]) empfiehlt auch 90%igen Alkohol mit 5% Säure, Stein[128]) 85%igen Alkohol mit 15—40 Theilen Säure vom spec. Gew. 1,4. Hierher gehörte auch das von Lepkowski[76]) und Stephan[129]) zur Fixirung und Entkalkung empfohlene Gemisch von Perenyi, welches eigentlich [nach P. Mayer[74]), pag. 33] nichts anderes ist als ein ca. 30%iger Alkohol, der 5 Procent Salpetersäure enthält.

Endlich muss als quellungshemmender Zusatz das von Andeer und Haug empfohlene Phoroglucin erwähnt werden. Haug[51]) hat es nicht sehr glücklich geradezu als »Entkalkungsmittel« bezeichnet und hat eine Phoroglucinentkalkungsmethode ausgebildet, von der Ziegler sagt, dass sie ihm einen vollständigen Misserfolg ergeben habe; die Entkalkung sei nicht gleichmässig, die Präparate würden sehr hart, schlecht färbbar, die Zellen hochgradig geschrumpft, die Knochenbälkchen ohne jede feinere Struktur. Ich kann diese Klagen Ziegler's nur theilweise gerechtfertigt finden und habe schlechte Erfahrungen nur mit der alkoholischen Phloroglucinmischung von Haug (s. unten) gemacht. Bei Verwendung frisch bereiteter, wässeriger Stammlösung, die mit 100—200 Theilen 20%iger Salpetersäure verdünnt war, habe ich gefunden, dass die Färbbarkeit der Präparate nicht leidet und dass das Phloroglucin in Verbindung mit Salpeter- oder Salzsäure starke Schrumpfung hervorruft, welche der Säurequellung entgegenzuwirken imstande ist.

Nach Andeer[2]) vermag Phloroglucin in richtig proportionirter Mischung mit Salzsäure die härtesten Knochen binnen wenigen Stunden in eine weiche, plastische Masse umzuwandeln und werden unter seiner Mithilfe die zartesten Gewebe geschont und die letzte Spur von Kohlensäure aus dem Knochenknorpel entfernt. Er empfiehlt eine gesättigte wässerige Lösung (eine Messerspitze Phoroglucin auf 1 Liter Wasser), der für verschiedene Knochen verschiedene Mengen reiner Salzsäure zugesetzt werden. Für Knochen von Batrachiern von 5—10%, von Cheloniern und Vögeln 10—20%, von Säugethieren 20—40%. Auswaschen in fliessendem Wasser bis zur Entsäuerung. Für gewöhnliche Säugethierknochen empfiehlt er, die gesättigte, wässerige Phloroglucinlösung mit dem gleichen Volumen Salzsäure zu versetzen.

Haug[51]) hat die Methode modificirt: 1 Grm. Phloroglucin wird mit 10 Ccm. reiner, nicht rauchender Salpetersäure (1,4 spec. Gewicht) langsam und sehr vorsichtig unter leichtem Schütteln erwärmt. Es bildet sich unter lebhafter Reaktion [weshalb das Erwärmen unterbleiben kann und die Mischung unter dem Abzug des chemischen Herdes vorgenommen werden soll (Schaffer[121])] eine dunkelrubinrothe Flüssigkeit, die mit 50 Ccm. destillirten Wassers zu verdünnen ist. Diese Stammlösung kann bis zu 300 Ccm. mit Salpetersäure von 20% verdünnt werden; weiter hinaus reicht die »schützende« Wirkung des Phlorogluceins

* Als spec. Gew. der officinellen Säure giebt das Arzneibuch für das Deutsche Reich an 1,153; Behrens (Tabellen) 1,157; Frey[44]) (pag. 82) 1,2 und Ziegler[152]) 1,3.

** Man kann sich denselben auch einfach durch Fällung aus einer Chlorkalklösung mit doppeltkohlensaurem Natron herstellen, indem man den Niederschlag gut auswäscht.

nicht. Fötale, jugendliche und Knochen niederer Thiere werden in dieser Flüssigkeit schon binnen $^1/_2$ St. weich, aber auch für grössere, ältere und härtere Knochen genügen Stunden. Für Zähne muss man den Procentgehalt der Salpetersäure auf 35% erhöhen. Dann folgt zur gründlichen Entsäuerung 2 Tage lang Auswaschen in fliessendem Wasser. Auch Salzsäure kann gewählt werden, muss aber stärker genommen werden (30%, für Zähne 45%) und soll 0,5% Kochsalz zugesetzt werden.

Zur langsamen Entkalkung empfiehlt Haug[62]) Phloroglucin 1·0, Acid. nitr. 5·0, Alkohol 70,0, Wasser 30,0.

Ferreri[37]) hat zur Entkalkung des Labyrinthes folgende Mischung empfohlen: 1 Grm. Phloroglucin wird in der Wärme in 100 Grm. Wasser und 10 Ccm. Salzsäure gelöst und nach dem Erkalten 200 Ccm. 70%igen Alkohols zugesetzt. Die Stücke kommen auf 30—40 Tage in die Flüssigkeit, die jede Woche zu wechseln ist, und werden in 70%igem Alkohol ausgewaschen.

Orth[94]) hebt hervor, dass an Knochen, welche in einem Gemische von Müller'scher Flüssigkeit, die 10% Formol enthält, nach der Entkalkung mit Salpetersäure-Phloroglucin Blutkörperchen, Knochenmark und Knochengewebe sehr gut erhalten erscheinen.

Aus Versuchen, welche ich über die Wirkung der Salpetersäure in verschiedenen Verdünnungen sowohl, als in verschiedenen Mischungen angestellt habe und welche zugleich eine Kritik der vorstehenden Angaben der Autoren bilden, hat sich Folgendes ergeben:

1. Salpetersäure in wässerigen Lösungen von 2—15% (3—23 Volumprocente der conc. Säure vom spec. Gewicht 1,4) bewirkt selbst an reinem, kollagenem Gewebe (Sehnen) keine Quellung, lässt sie mit Ausnahme einer leichten Härtung und Gelbfärbung (bei den stärkeren Concentrationen) nahezu unverändert.

2. Wässerige Lösungen vom genannten Procentgehalt entkalken, mit anderen Säuren (Salzsäure ausgenommen) verglichen, am raschesten.

3. Jeder quellungshemmende Zusatz, mit Ausnahme des Phloroglucins, verzögert die Entkalkung. Besonders gilt dies vom Alkohol, der, in stärkeren Graden (70—96%) angewendet, zugleich eine beträchtliche Schrumpfung der Stücke hervorruft.

4. Salpetersäuremischungen unter 1,6% bewirken eine mit der Verdünnung steigende Quellung des kollagenen Gewebes. Daher ist eine solche auch unvermeidlich, wenn man in Salpetersäure entkalkte Stücke einfach durch Waschen in fliessendem Wasser entsäuern will. Weiters ist es auch eine irrige Meinung, wenn man glaubt, stark verdünnte Säure wirke schonender.

5. Zur Entsäuerung in Salpetersäure entkalkter Stücke muss demnach das Waschen in Wasser unbedingt vermieden werden. Dieselbe gelingt an nicht zu grossen Stücken am raschesten, wenn man sie aus der Säure, die zweckmässig ein- bis zweimal gewechselt werden soll, in 5%ige Alaunlösung auf 24 Stunden überträgt, worauf ein Auswaschen in Wasser ohne Gefahr einer Quellung folgen kann. Langsamer gelingt die Entsäuerung in 10—15%iger Kochsalzlösung, die täglich zu wechseln ist, oder in einem Gemisch von gesättigter Kochsalzlösung und $^1/_2$%iger Lösung von doppelkohlensaurem Natron (Dauer 4—6 Tage). Am langsamsten vollzieht sich die Entsäuerung in Alkohol mit Zusatz von doppelkohlensaurem Kalk.

Die rascheste und schonendste Entkalkung wird also durch Behandlung mit 2—15%iger wässeriger Salpetersäure, Uebertragen auf 24 Stunden in 5%ige Alaunlösung und Auswaschen derselben in Wasser erzielt.

Trotz der mannigfachen Nachtheile, welche die Verwendung alkoholischer Salpetersäuregemische mit sich bringt, können sie in einem Falle mit Vortheil verwendet werden: Sie gestatten nämlich auch bereits in Celloidin eingebettete Stücke zu entkalken, ein Verfahren, das nach meinem Vorschlage von Rousseau mit gutem Erfolge zur Entkalkung der zarten Kalkschwämme ausgebildet worden ist. Bei der kurzen Einwirkungsdauer, welche hier zur Entkalkung nöthig ist (12—24 Std.), scheint auch der starke Säuregehalt, den Rousseau[113]) empfiehlt (85%igen Alkohol mit 15—40% Salpetersäure von 1,4 spec. Gewicht), oder 90%iger Alkohol mit 10—50% Säure[114]) unschädlich zu sein. Aber auch für die Entkalkung der Gewebe des Menschen und der Wirbelthiere leistet diese Methode Ausgezeichnetes, wenn es sich um die Erhaltung der Lage zarter, leicht verschieblicher oder frei zutage liegender verkalkter Weichtheile handelt. So habe ich mittelst derselben Situsschnitte durch die Krone von Milchzähnen angefertigt, deren Schmelz noch organische Substanz in grösserer Menge enthält und dürfte die Methode gerade für das Studium der Schmelzentwicklung und -struktur noch Vieles zu leisten im Stande sein.

Stein[128]) hat die Entkalkung auch nach vorhergegangener Paraffineinbettung versucht, jedoch ohne guten Erfolg; die Entkalkung geht viel langsamer vor sich und das Paraffin wird bröckelig.

11. Salzsäure ist wegen der starken Quellung, welche sie verursacht, in wässeriger Lösung nicht zu verwenden. Da sie auch auf die feinere Struktur der Zellen und Kerne, sowie auf die Färbbarkeit von schädigendem Einfluss ist, wird ihr jetzt wohl allgemein die schonender wirkende Salpetersäure vorgezogen.

Sie wurde mit verschiedenen quellungshemmenden Zusätzen verwendet; so mit Chromsäure (s. d.), Phloroglucin (s. unter Salpetersäure), Alkohol (ARNOLD[6]); WALDEYER[142]), (pag. 958) empfiehlt zur Entkalkung des Labyrinthes 0·001%iges Chlorpalladium mit $^1/_{10}$ Theil Salzsäure; SQUIRE[127]) zum Entkalken von Zähnen Glycerin 95; Salzsäure 5; CHOQUET[24]) bringt den Zahn in 10%ige Salzsäure, welcher er nach 15 Std. reine Salpetersäure bis zu 22% zufügt. Vollständig entwickelte Zähne sind im Laufe des 4. Tages entkalkt. Diese Methode verziehtet jedoch auf die Erhaltung feinerer histologischer Strukturen.

Zur Entkalkung macerirter Knochen leistet die durch v. EBNER ausgebildete Methode noch immer vorzügliche Dienste; sie erhält, wie ich gegen P. ZIEGLER hervorheben muss, die fibrilläre und lamelläre Struktur des Knochengewebes sehr gut. v. EBNER[29]) verwendete als quellungshinderndes Mittel eine 10—15%ige Kochsalzlösung, der er 1—3% Salzsäure zusetzt. Die Säure muss der Grösse des zu entkalkenden Knochenstückes entsprechen und oft erneuert werden; so entkalkte Knochen unterscheiden sich durch ihr weisses Ansehen und ihre Undurchsichtigkeit von dem gelblichen, durchscheinenden, gequollenen Knochenknorpel.

Zur Neutralisirung wird der entkalkte Knochen in fliessendem Brunnenwasser ausgewaschen und wieder in zur Hälfte verdünnte, kalt gesättigte Kochsalzlösung gebracht, deren bald auftretende saure Reaktion durch Zusatz stark verdünnter Ammoniakflüssigkeit neutralisirt wird.

Noch besser scheint mir, die entkalkten Stücke, ohne sie mit Wasser in Berührung zu bringen, in häufig gewechselter und umgeschüttelter 10—15%iger Kochsalzlösung zu entsäuern.

VIVANTE[140]) überträgt die Stücke nach gründlichem Auswaschen in eine Lösung von kohlensaurem Natron. LEE und MAYER[74]) empfehlen zur Neutralisirung ebenfalls schwache Ammoniak- oder Sodalösung, während HAUG vor dieser Art der Neutralisirung warnt.

Eine alkoholische Kochsalz-Salzsäure-Mischung, wie sie verschiedene Autoren v. EBNER zuschreiben*, ist von diesem niemals angegeben oder verwendet worden.

HAUG[52]) giebt folgende Formel: HCl 1,0—5,0, Alkohol 70,0, H_2O 30,0, NaCl 0,5, in welcher der geringe Kochsalzgehalt wohl kaum als quellungshindernd in Betracht kommt.

12. Schwefelige Säure wird in gesättigter, wässeriger Lösung (ca. 5%) als beste Entkalkungsflüssigkeit von P. ZIEGLER[162]) empfohlen. Sie entkalkt rasch und gleichmässig (Extremitäten von Triton in 2—3 Stunden, Humerus des ausgewachsenen Meerschweinchens in 1—2 Tagen, ohne die feineren Strukturen und Färbbarkeit zu beeinträchtigen.

Ihr starkes Entkalkungsvermögen beruht auf der Umwandlung des unlöslichen Tricalciumphosphates in das leicht lösliche Monokalciumphosphat. Die Säure wird durch 24stündiges Auswaschen entfernt. Zur vorhergehenden Fixation eignet sich am besten 4%ige Formollösung; unzweckmässig sind Sublimat- oder Osmiumgemische. Schwefelige Säure bringt kollagenes Gewebe zum Quellen; diese Quellung ist aber nicht sehr stark und geht beim Auswaschen grösstentheils zurück. Die Entkalkungszeit ist etwas länger wie bei der wässerigen Salpetersäure; immerhin kann diese Säure zur Entkalkung sehr empfohlen werden.

13. Trichloressigsäure in 5%iger wässeriger Lösung (alkoholische ist unwirksam) wurde von PARTSCH[97]) empfohlen. Sie soll rascher als Salpetersäure und energisch entkalken mit Schonung der zartesten Strukturen und Erhaltung der Färbbarkeit. Häufiges Schütteln und Wechseln der Flüssigkeit nothwendig; Entsäuern 1—2 Tage in fliessendem Wasser, Härten in

---

* So: FRIEDLÄNDER, Mikr. Technik, 1. Aufl. 1886, pag. 20. — BEHRENS, Tabellen, 2. Aufl. 1892, pag. 88. — v. KAHLDEN[50]), pag. 16, der sie geradezu als »v. EBNER'sche Entkalkungsflüssigkeit« aufführt, ohne die Originalangabe zu berücksichtigen. — SCHMORL[124]), HAUG[52]) u. a. Die Formel lautet: Salzsäure 2,5, Alkohol 500, Wasser 100, Chlornatrium 2,5.

steigendem Alkohol. Die grosse Entkalkungsfähigkeit dieser Säure kann ich bestätigen; der Schädel eines Frosches (nach Sublimat Fixirung) binnen 24 Stunden in 4%iger Lösung der Säure (NEUBERGER (Physiol. Centralbl., Bd. IX, 1897, pag. 494). Jedoch bewirkt sie eine stärkere Quellung kollagenen Gewebes, welche bei starker Verdünnung der Säure wesentlich zunimmt. Das einfache Auswaschen in Wasser zur Entsäuerung ist daher nicht rathsam.

Anhang zur Entkalkung. Entkieselung. Als Lösungsmittel für die Silikate kann zu histologischen Zwecken nur die Flusssäure in Betracht kommen. Die eingreifende Wirkung derselben erfordert aber besondere Vorsicht, auch für den Experimentator. Sämmtliche Gefässe und Instrumente, welche mit der Säure in Berührung kommen, müssen aus Guttapercha sein oder, wenn Glas verwendet wird, durch einen Paraffinüberzug geschützt sein.

P. MAYER[81]) empfiehlt die gehärteten oder fixirten Objekte in Alkohol in ein mit Paraffin ausgekleidetes Glas zu bringen und tropfenweise Flusssäure zuzusetzen. Die Entsäuerung muss durch tagelanges Waschen in wiederholt gewechseltem, reinem Alkohol geschehen.

Bei der Einbettung der so entkieselten Weichtheile ist eine Schrumpfung, Kompression oder Verschiebung, überhaupt mehr minder starke Veränderung der natürlichen Lagebeziehungen kaum zu vermeiden. Es ist daher vorzuziehen auch die zu entkieselnden Hartgewebe nach regelrechter Fixirung und Härtung vorher gut in Celloidin einzubetten und nach dem Vorgehen von ROUSSEAU[113 u. 115]) erst dann der Einwirkung der Flusssäure auszusetzen. Die Celloidinblöcke kommen in eine reichliche Menge (für 10 Ccm. Celloidin, 50 Ccm Alkohol) von 90%igem Alkohol 100,0, Fluorwasserstoffsäure 20,40 und verweilen darin unter wiederholtem Umschütteln 1—2 Tage; gründliches Waschen durch mehrere Tage in 85%igem Alkohol bis zur vollständigen Entsäuerung.

B. Methoden zur histologischen Untersuchung des Knochengewebes und der Zähne. Die Methoden zur Untersuchung des Knochengewebes sind auch auf die Zahngewebe anzuwenden, da es sich um verwandte, theilweise (Cement) gleichartige Gewebe handelt. Die histologische Untersuchung des Schmelzes soll im Anhange des dritten Kapitels kurz besprochen werden.

In der Eintheilung des Stoffes halte ich mich an die von mir bereits an anderer Stelle[121]) gegebene Zusammenstellung.

1. Untersuchung des frischen Knochengewebes. Diese ist wegen der Massigkeit der meisten Knochen nur in sehr beschränktem Masse möglich. Immerhin giebt es aber so dünne Knochenplättchen, dass sie ohne weiteres unter das Mikroskop gebracht werden können; so z. B. Plättchen vom Pflugschaarbein, Thränenbein, dünne Plättchen von pathologisch auftretenden Verknöcherungen (ROLLETT[112]); die Ausbreitungen des Siebbeines, einzelne Spongiosabälkchen, kleine Stückchen aus der Fossa infraspinata und Fossa iliaca oss. il. (BUSCH[21]). VOLKMANN[141]) hat auch dünnste Knochenbälkchen mit der Pincette ausgebrochen oder kleine Partikelchen stark rareficirter Diploe mit Staarnadeln zerzupft. Frisch ausgebrochene Spongiosabälkchen hat auch v. RECKLINGHAUSEN[104]) zur Untersuchung verwendet. Im frischen Zustande können auch die dünnen platten Schädelknochen kleiner Säugethiere (das Stirnbein von Vespertilio, Nasenmuscheln der Hausmaus, LEYDIG[77, 78]), die Scheitelbeine der Maus, des Maulwurfs u. s. w.), die Schädelknochen von Urodelenlarven (LEYDIG[78]) untersucht wurden. Man schabt von denselben mit dem Skalpell die Weichtheile ab und bringt sie in einer indifferenten Zusatzflüssigkeit unter das Mikroskop. Nach EWALD[36]) sind die Flossenstrahlen oder die dünnen Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Knochenfische (von 6 bis 10 Cm. Länge) ein ausgezeichnetes Objekt, um die Knochenkörperchen im

lebensfrischen Zustande zu untersuchen und sich zu überzeugen, dass die Lakunen nirgends mit Luft oder Kohlensäure gefüllt sind.

Die Gaumenzähnchen von Urodelen (Triton) lassen sich durch einfaches Zerzupfen der Gaumenschleimhaut in $^1/_2$%iger Kochsalzlösung ebenfalls untersuchen.

2. Herstellung durchsichtiger Schnitte und Schliffe von nicht entkalkten Knochen und Zähnen. Spongiöser Knochen jüngerer Thiere (Epiphysen der Schenkelkondylen junger Kaninchen HEITZMANN[53]) ist leicht schneidbar, so dass man ohne weiteres Schnitte anfertigen kann, die auch für stärkere Vergrösserung brauchbar sind. Nach STEPHAN[130]) gilt dasselbe auch für die Knochen gewisser Meeresfische aus grosser Tiefe (wie z. B. Cyclopterus, Trachypterus u. a.).

Auch aus der Kompakta grösserer Knochen, sowie auch vom Zahnbein (J. TOMES[137]) kann man sich mit einem starken Knorpelmesser ohne weiteres dünne Quer- und Längsschnitte herstellen (BÖHM-OPPEL[11]) u. a.). v. RECKLINGHAUSEN[104]) hat die Methode an Knochen aus Alkohol geübt. Man erhält so jedoch nur kleine, oft durch Risse verunstaltete, gerollte Schnittchen.

Zur Herstellung grösserer Längs- oder Querschnitte muss man sich der Schleifmethode bedienen. Dieselbe wird in der verschiedensten Weise geübt. Handelt es sich um die Herstellung von Schliffen aus getrockneten, ihrer Weichtheile beraubten Knochen, so ist eine sorgfältige Maceration und vollständige Entfettung unerlässliche Vorbedingung.

Genauere Vorschriften zur Maceration giebt uns A. RANVIER[103]) (pag. 248); im allgemeinen genügt es, wenn man frische Knochen, die man von allen anhaftenden Weichtheilen befreit und deren Markhöhle man eröffnet hat, ohne sie eintrocknen zu lassen, in Wasser bringt und sie, am besten an einem warmen Orte, Wochen bis Monate stehen lässt; dann bürstet man sie unter starkem Wasserstrahle ab und lässt sie an einem luftigen Orte, aber nicht dem direkten Sonnenlichte ausgesetzt, trocknen. Sie müssen dann vollkommen weiss erscheinen; zeigen sie noch gelbliche, durchscheinende Stellen, so enthalten sie noch Fett und müssen nachträglich in Benzol, Toluol oder Xylol bei Brütofentemperatur entfettet werden.

Vor dem Kochen der Knochen behufs Maceration derselben oder vor dem Gebrauche »verwester, im Laufe der Jahre ausgewaschener alter Knochen« (BÖHM und OPPEL[11]) zu histologischen Studien der normalen Knochenstruktur muss gewarnt werden.

Den so vorbehandelten Knochen spannt man in den Schraubstock ein und fertigt mit einer Laubsäge aus freier Hand möglichst dünne und ebene Sägeschnitte an; das gelingt bei kleineren Stücken leicht, zur Anfertigung grosser, dünner Sägeschnitte gehört viele Uebung. Zu diesem Zwecke ist es besser, sich einer rotirenden Kreissäge zu bedienen, wie dies BUSCH[21]) gethan hat. Man kann dieselbe an einer gewöhnlichen Dreh- oder Schleifbank anbringen oder endlich sich einer eigenen Knochenschneidemaschine bedienen, wie sie z. B. von den Gebrüdern CSOKOR[27]) konstruirt worden ist.

Ich habe eine solche in der Weise anfertigen lassen, dass ich das von mir angegebene und von A. FROMME* ausgeführte Krahnmikrotom mit einer horizontalen, durch ein Schwungrad in Rotation versetzten Kreissäge verbunden habe, während der Krahn eine starke Klammer zum Einspannen der Knochen trägt.

Mittels dieser Vorrichtung kann man auch frische Knochen in Serienschnitte zerlegen, die sich nach Reinigung vom Sägepulver sogleich zur mikroskopischen Untersuchung eignen.

Neuestens empfiehlt ARNDT[5]) zur Herstellung dünner Schnitte von macerirten oder frischen Knochen, Zähnen u. s. w. eine Präcisionsdoppelsäge, die nach dem Principe des Doppelmessers arbeitet.

Die aus freier Hand gesägten Knochenplättchen müssen erst durchsichtig geschliffen und polirt werden. Handelt es sich um möglichst

* Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891, pag. 298 u. Bd. 13, 1896, pag. 1.

dünnste Präparate, so sind diese Proceduren auch bei den mittels der Schneidemaschine hergestellten Schnitten vorzunehmen.

Schwieriger ist die Herstellung von Durchschnitten (bes. Längsschnitten) durch Zähne. Querschnitte durch den schmelzfreien Theil können ebenfalls mit der Säge hergestellt werden. Längsschnitte oder Querschnitte durch die Krone werden am besten so angefertigt, dass man den Schmelz mit einem rotirenden Karborund-, Korund- oder Diamantrad*, wie es die Zahnärzte benützen unter Befeuchtung und ohne zu grossen Druck durchschneidet, während man zur Fortsetzung des Schneidens im Zahnbein wieder besser zur Säge (feine Stahllaubsäge) greift. MORGENSTERN[86]) zeichnet sich am Zahn die Ebenen, in denen er durchtrennen will, mit Linien vor; im Schmelz schleift er mit dem rotirenden Korundrad eine 1—2 Mm. tiefe Furche ein und vollendet die Durchtrennung mit der Schneidezange oder einer Separationsfeile.

Das Schleifen bis zur Durchsichtigkeit kann in verschiedener Weise vorgenommen werden. Entweder bedient man sich eines Schleifpulvers (Tripel, HARTING[50]); Bimssteinpulver, Schmirgel, Karborundpulver), mengt dasselbe auf einer matten Glasplatte mit Wasser zu einem Brei und schleift in diesem den Sägeschnitt, indem man ihn mittels eines reinen Korkes andrückt, unter wiederholtem Umwenden bis er durchscheinend ist. Bei dieser Methode ist das Entfernen des Schleifpulvers oft sehr mühsam.

RANVIER[103]) und V. KOCH[62, 63]) schleifen zwischen zwei Bimssteinen; LAVDOWSKY[73]) hat Glas- und Schmirgelpapier empfohlen. Ein rasches und sauberes Arbeiten gestattet der zur Herstellung durchsichtiger Schliffe zuerst von BUSCH[21]) empfohlene Gebrauch von Feilen; dazu muss der Sägeschnitt stets aufgeklebt werden. BUSCH leimt auf einen polirten Klotz von hartem Holz auf. V. HÖHNEL[54]) und GEBHARDT[46]) kitten den Schnitt nach einer schon von KOELLIKER[64]) empfohlenen Methode mittels erhitzten Kanadabalsams, HOPEWELL-SMITH[55]) mittels eines Tropfens Wasserglas (für trockenes Poliren) auf den Objektträger, MATSCHINSKY[83]) mittels Gummi arabicum oder Knochenleim auf Holz, Stein oder Mattglas auf. Dies geschieht stets mittels der zuerst durch Schleifen oder Feilen hergestellten Schlifffläche. Die freie Fläche wird dann mit immer feineren Feilen bearbeitet, bis der Schnitt durchsichtig ist; dann wird er abgelöst und am besten zwischen zwei Spiegelglasplatten eingepresst getrocknet oder auf demselben Objektträger fertig geschliffen, polirt und eingeschlossen (besonders für Zähne, GEBHARDT[46]). Ueber die Feilmethode von RUPRECHT[117]) siehe Kap. V.

Rasch und sauber kann man auch mittels verschieden feiner Schleifsteine arbeiten, eine Methode, die FREY[44]) ausführlich beschreibt und nach diesem Autor von REINICKE angegeben worden sein soll.

Besonders zum Schleifen der Zähne ist sie der Feilmethode vorzuziehen, da der Schmelz bei letzterer leicht splittert.

Der Sägeschnitt wird zuerst auf einem gröberen (z. B. künstlichen Schmirgel-) Stein einfach mit dem Finger, den man durch Waschleder- oder Kautschuküberzug schützen kann, glatt und dünn geschliffen, gut abgewaschen und dann auf einem belgischen Abziehstein, Missisippi- oder Arkansasstein (V. HÖHNEL[54]), lithographischem Schiefer (EHRENBAUM[34]) unter mässiger Befeuchtung bis zur möglichsten Dünne weiter behandelt; dann wird er wieder gewaschen und nach dem Trocknen erscheinen seine Flächen vollkommen spiegelnd und glatt.

Sehr zweckmässig ist es auch, nach der Angabe GERLACH'S[47]) den Sägeschnitt auf einen grösseren, stabilen Schleifstein mit einem kleineren, etwas rauheren anzudrücken und so zwischen beiden Schleifsteinen zu schleifen, was sehr rasch dünne Schliffe giebt.

* Empfohlen im Dental Cosmos, 1890, pag. 164.

Walkhoff[113]) empfiehlt eine, durch einen kleinen Elektromotor betriebene Schleifmaschine mit horizontal laufender Scheibe, die ständigen Wasserzufluss hat.

Um auf andere Weise hergestellte Schliffe zu poliren, muss man dieselben zunächst auf das sorgfältigste von allem anhaftenden Schleif- oder Feilpulver reinigen, was man am besten durch Bearbeiten mit einem steifen Pinsel unter Wasser, dann unter Alkohol erreicht.

Wenn der Schliff vollkommen trocken ist, reibt man ihn auf einer sorgfältig gereinigten, matten Glasplatte (Harting), glattem Papier, auf Waschleder mit geschlemmter Kreide (Stöhr), auf einem Abziehstein u. s. w., bis beide Flächen vollkommen spiegelnd erscheinen. Dabei muss man jede Berührung mit den Fingern vermeiden, sondern sich eines reinen Korkes oder Waschleders bedienen.

In vielen Fällen empfiehlt es sich, die Sägeschnitte in einer harten, schleifbaren Masse einzuschliessen, besonders wenn es sich um die Erhaltung zarter Knochenbälkchen (Spongiosa) oder um fossile Knochen handelt, deren organische Grundsubstanz verloren gegangen ist.

Auch um Sägeschnitte kleiner, gebrechlicher Knochen oder Zähne herzustellen, ist ein solcher Einschluss oft nöthig. Dazu genügt oft ein Tropfen Siegellack; Ranvier[103]) bedient sich zum Einschluss spongiöser Knochensubstanz der Durchtränkung mit dicker Gummilösung und nachfolgender Härtung in Alkohol. Selbstverständlich muss zur Benetzung des Schleifsteines auch Alkohol verwendet werden.

Ehrenbaum[34]) schmilzt die Objekte in 10 Theilen Kolophonium und 1 Theil gewöhnlichen Wachses ein; Schleifen mit Schmirgel von steigender Feinheit, Poliren auf reinem, mässig feucht gehaltenem lithographischen Schiefer. Aufkitten der polirten Fläche durch Aufdrücken auf den erwärmten Objektträger. Wiederholen des Schleifens; Säubern und Trocknen des Schliffes, Behandeln mit Terpentinöl oder Chloroform, Einschluss in Kanadabalsam.

Sehr empfehlenswerth ist für gebrechliche Objekte das Einschmelzen in Kanadabalsam.

Man erwärmt in einem eisernen Löffel dicken Kanadabalsam, in den man das Stück gebracht hat, vorsichtig und ganz allmählich; zu starkes und rasches Erhitzen macht den Balsam brüchig. Durch öfteres Eintauchen einer Nadel in den Balsam und Prüfen desselben mit dem Fingernagel überzeugt man sich am besten, wann die gewünschte Konsistenz erreicht ist. Dies ist der Fall, wenn der der Nadel anhaftende Balsam rasch erstarrt und beim Aufdrücken mit dem Nagel keinen Eindruck erleidet, aber auch bei stärkerem Drucke nicht zerbröckelt. Das so eingebettete Stück kann man mit der Laubsäge in mässig dicke Scheiben zerlegen oder man stellt sich die erste Schlifffläche auf einem Schleifstein her. Nach Abglättung derselben kittet man das Stück mit dieser Fläche auf den Objektträger auf. Dazu erwärmt man wieder vorsichtig auf dem gut gereinigten Objektträger einen Tropfen Balsam, setzt das Stück mit der Schlifffläche hinein und drückt es, wenn der Balsam die oben angegebene Konsistenz hat, fest auf (durch Beschweren mit einer Eisenplatte u. s. w.), so dass zwischen der Schliff- und Glasfläche keine Luftblasen sichtbar sind. Dann wird das Stück zuerst auf einem rotirenden Schleifstein und endlich auf einem feinen Stein möglichst dünn geschliffen; gerade da löst sich derselbe oft ab, wenn das Aufkitten nicht vollständig gelungen war.

Eine Einbettung der Knochenstücke oder Zähne muss stets vorgenommen werden, wenn man sie mit Erhaltung ihrer Weichtheile zu Schliffen verarbeiten will.

Die Anfertigung feuchter Schliffe von frischen oder in Alkohol gelegenen Knochen hat zuerst Volkmann[141]) empfohlen. Nealey[90])* macht auf die Vortheile aufmerksam, welche die Verwendung vollkommen frischer Zähne und Knochen zum Schleifen bietet. Auf der rotirenden Schmirgel-

* Seine Angaben sind bei Lee und Mayer[74]) (pag. 404) missverständlich wiedergegeben.

scheibe (die dann mit $^1/_2$%iger Kochsalzlösung zu befeuchten ist) kann man in einer halben Stunde einen Längsschliff durch einen Zahn fertig haben. Die Elasticität der Gewebe ermöglicht die dünnsten Schliffe; die Schnelligkeit des Verfahrens gestattet die Zellen des Knochens wie frische zu färben. MATSCHINSKY [82]) bettet zur Erhaltung von Periost und Spongiosa in Gummi arabicum ein; jedoch verzichtet seine Methode auf die Erhaltung der zelligen Elemente des Knochens, des Knochenmarks und Periosts. Vollkommener ist die Methode, welche v. KOCH [62]) bei seinen Korallenstudien benützt hat und die schon von MOSELEY (Journ. R. Micr. Soc. London 1880, pag. 496) für Knochen und später besonders von WEIL [144]) auch für Zähne (und Knochen) empfohlen worden ist. Zur Geschichte dieser v. KOCH-WEIL'schen Methode vergleiche man die Aufsätze von WEIL [146]), RÖSE [110]) und CHRISTENSEN [25]).

WEIL [144]) macht an möglichst frischen Zähnen die Pulpa zugänglich durch Amputation von etwa 2—5 Mm. der Wurzel für Kronenschliffe oder so viel von der Krone, dass die Pulpa derselben an der Spitze von Dentin entblösst ist, für Wurzelschliffe. Am besten sägt man die Stellen mit einer Laubsäge oder Separirfeile ein und schneidet mit einer Secirzange durch. Diese Methode ist entschieden dem später [146]) von WEIL empfohlenen Zersägen des frischen Zahnes in zwei oder drei Theile, wobei die Gefahr einer Ablösung der Pulpa grösser ist, vorzuziehen. Unzulässig ist es auch, die Operationen unter fortwährender Berieselung des Zahnes mit Wasser vorzunehmen, wie WEIL empfiehlt. Vielmehr soll der Zahn sofort in die Fixirungsflüssigkeit, am besten erwärmte, gesättigte, wässerige Sublimatlösung kommen (6—8 Stunden). Auswaschen, Nachhärten in steigendem, jodirtem Alkohol. Nun zerschneidet er die Zähne mit der Laubsäge unter Befeuchtung mit Alkohol in Scheiben. Diese werden 1—2 Tage in wässeriger, 2—3 Tage in alkoholischer Boraxkarminlösung durchgefärbt, in 70%igem Alkohol, der 1% Salzsäure enthält, 12—36 Stunden extrahirt und dann $^1/_4$ Stunde in 90%igen, $^1/_2$ Stunde in absoluten Alkohol übertragen. (Diese Zeiten sind entschieden zu kurz.) Von da bringt er sie in ein ätherisches Oel (Nelkenöl) auf 12 Stunden oder mehr. Abspülen in reinem Xylol, Uebertragen in viel Chloroform auf 24 Stunden. Diesem wird dann von auf dem Wasserbade zur Glashärte eingedampftem Kanadabalsam zugesetzt, zuerst (24 Stunden) wenig, dann immer mehr, bis zur Sättigung. Nun wird in einer Kochschale bei 60—70° wieder bis zur Glashärte eingedampft, der Zahn mit dem Stichel herausgeholt, weiter zerschnitten und geschliffen. Es ist klar, dass die Präparate umso besser gelingen werden, je langsamer man die Proceduren vornimmt. Besonders muss man auf eine ausreichende Fixirung bedacht sein und sich vor zu starkem Erwärmen und zu raschem Eindampfen des Balsams hüten, da sonst Schrumpfungen der Weichtheile unvermeidlich sind.

RÖSE [109]) hat zum Fixiren auch kurzes Aufkochen in 2%iger Sublimatlösung empfohlen, was mir bei der Struktur der Pulpa bedenklich erscheint. Beim Durchfärben sucht er saure Mittel zu vermeiden und färbt 8—14 Tage in GERLACH'S Karmin (d. i. karminsaures Ammoniak), dem ein einfaches Auswaschen folgt. Nach RÖSE [110]) muss man ferner schon beim Ueberführen der Präparate vom absoluten Alkohol in ätherische Oele sehr vorsichtig zu Werke gehen und empfiehlt er an erster Stelle [109]) aus absolutem Alkohol in ein Gemisch von solchem und Xylol, allmählich in reines Xylol und aus diesem in eine dünne Lösung von Kanadabalsam zu übertragen. Eindampfen bei 50° C. im Wärmeschrank 3—4 Monate. Später verwendete RÖSE [110]) Cedernöl, und zwar bringt er die Objekte aus Alkohol in ein Gemisch von Alkohol und Cedernöl, dann in reines Cedernöl, weiter in ein Gemisch des Oeles mit Chloroform oder Xylol, endlich in reines Chloro-

form oder Xylol. Zum Einbetten verwendet er nun Damarlack; dünne Lösungen in Chloroform oder Xylol, Eindampfen auf dem Sandbade, wobei man im Beginne möglichst geringe Temperaturgrade wählen muss; zum Schlusse kann man ohne Schaden etwas rascher eindampfen. Zweckmässig ist es, nach Herstellung der ersten Schlifffläche (auf Arkansasstein und matter Glastafel) auf dem Objektträger mit heissem Kanadabalsam aufzukleben und auf dem Objektträger fertig zu schleifen. Das ganze Vorgehen nimmt Monate in Anspruch, ergiebt aber dann sehr brauchbare Präparate.

Neuerdings hat Choquet (nach Hopewell-Smith [55]) [pag. 57]) versucht, das ganze Verfahren wesentlich abzukürzen (auf 4—5 Tage), was aber wohl auf Kosten der Präparate gehen dürfte. 6 Stunden in Formol fixiren, ebensolange Färben in alkoholischem Boraxkarmin (auch gleichzeitig in einem Gemisch von Formol und Boraxkarmin auszuführen; Rayson Sears); $\frac{1}{2}$ Stunde differenziren in salzsaurem Alkohol (50%), je $\frac{1}{2}$ Stunde in 70-, 90- und 100%igem Alkohol; je 1 Stunde in absolutem Alkohol mit steigendem Xylolzusatz (10%, 23%, 33%, 50%), endlich reines Xylol. Diesem wird allmählich gepulverter Kanadabalsam zugesetzt, bis eine dicke Lösung entsteht. Diese wird 2—3 Tage am Wasserbade eingedampft.

Mummery (Transact. Odontol. Soc. London 1890; Ref. im Dental Record, 1890, Vol. X, pag. 267) und Christensen [25]) wiederholen im wesentlichen die Angaben von Weil.

Von mehr historischem Interesse ist das bei Choquet [24]) (pag. 67) wiedergegebene Verfahren von Hyatt (Americ. mon. micr. journ. 1880), die mit der Pulpa fixirten und entwässerten Zähne mit Gummilack zu durchtränken und mit diesem in einen Klotz von weichem Holz einzukitten, mit welchem dann der Zahn auseinandergesägt wird.

Zagelmeier [151]) hat die ursprüngliche Vorschrift v. Koch's [63]) befolgt und die fixirten Knochen aus absolutem Alkohol in eine gesättigte Lösung von Kopallack in Chloroform übertragen und letztere bei ungefähr 30° C. zum Verdampfen gebracht. Das Harz wird weiter getrocknet, bis es vollständig hart ist und mit den eingeschlossenen Knochen in Scheiben zersägt werden kann. Zur Vorfärbung empfiehlt er karminsaures Ammoniak oder Hämatoxylin-doppelchromsaures Kali nach Apáthy.*

Wie diese Zusammenstellung zeigt, ist der individuellen Ausbildung der Schleifmethode ein weiter Spielraum geboten und wird man noch verschiedene, darauf bezügliche Angaben finden können. Ich verweise unter anderen auf Choquet [24]), Hopewell-Smith [55]), Latham [72]), Tolputt [136]), Walkkoff [143]).

Anhang.

Die histologische Untersuchung des Schmelzes.

Ich gebe diese Darstellung hauptsächlich nach v. Ebner [32, 33]), wo auch die übrigen Litteraturnachweise zu suchen sind.

Bei der Untersuchung des fertigen Schmelzes ist man vornehmlich auf die Anfertigung von Schliffen angewiesen. Der Schmelz wird am besten mit dem Karborund-, Korund- oder Diamantrad in Scheiben geschnitten und diese vorsichtig dünn geschliffen, wobei die Einschmelzung in harten Kanadabalsam sehr zu empfehlen ist.

Zur Darstellung der bräunlichen Parallelstreifen von Retzius muss man getrocknete oder längere Zeit in starkem (absolutem) Alkohol gelegene Zähne benützen; feuchte Schliffe von anderen, nicht ausgetrockneten Zähnen zeigen in der Regel nur blasse Streifen.

Die Schreger'schen Faserstreifen treten an radiären Längsschliffen besonders deutlich nach Aetzung mit verdünnter Salzsäure [Koelliker [64])] hervor.

Isolirte Bruchstücke von Schmelzprismen erhält man durch Absprengen oder Zertrümmern von Schmelzstückchen; leichter isolirt man die Prismen an sich bildendem Schmelz [Koelliker [64])]. Hopewell-Smith [55]) (pag. 23) bringt einen Zahn auf 30 Stunden in 10%ige Salzsäure und von dem erweichten Schmelz mit Nadeln eine Partie auf den Objektträger; beim Zerzupfen der Masse in Kochsalzlösung werden leicht Schmelzprismen (axiale, ungelöste Theile derselben) isolirt. Die Querstreifung der Schmelzprismen tritt an länger in (sauer reagirendem) Kanadabalsam oder Damarharz eingeschlossenen Schliffen oder an mit verdünnter Salz-, Salpetersäure u. s. w. geätzten Schliffen oder Splittern hervor.

An Zahnschliffen, welche man auf dem Platinbleche so lange erhitzt, bis das Zahnbein eine kohlschwarze Farbe angenommen hat, werden die Schmelzprismen, beziehungsweise die Spalträume zwischen denselben besonders deutlich.

Die Kittsubstanz zwischen den Prismen kann durch Behandlung nicht ausgetrockneter Schmelzschliffe oder -splitter mit Ameisen-, $\frac{1}{2}$—1%iger Chrom- oder besonders

* Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888, pag. 47.

Pikrinsäure sichtbar bemacht werden, welche Säuren zuerst die Prismen und erst später auch die Kittsubstanz lösen. J. Hart[49]) hat letztere als zartes Netzwerk an vergoldeten, frischen Schliffen, die er mit 6%igem Eisessig entkalkt hatte, erhalten. (Vergl. pag. 26.) In ausgezeichneter Weise kann man die Kittsubstanz an jugendlichen, besonders an noch in der Alveole eingeschlossenen Ersatzzähnen darstellen, wenn man entkalkte Schnitte mit Kongoroth färbt. Aber auch die spärlichere Kittsubstanz jugendlichen, stärker verkalkten Schmelzes kann man an Schnitten erhalten, wenn man die Entkalkung nach vorhergegangener Celloidineinbettung vornimmt (siehe Kapitel Entkalkung, S. 654).

Das Schmelzoberhäutchen wird an frischen, nicht abgenutzten Zähnen durch Kochen in Säuren oder Alkalien isolirt. Nach Paul (Journ. of the Brit. Dental Assoc. 1896) kann es auch von in Ammoniumbichromat (2%) gehärteten, in schwachen Alkohol mit 5% Salpetersäure, oder an unmittelbar in Phloroglucin-Salpetersäure entkalkten Zähnen abgezogen, ausgewaschen und gefärbt werden. Der frisch gezogene Zahn kommt nur für wenige Minuten in die Säure-Phloroglucin-Mischung, bis sich die Membran zu sondern beginnt. Dann wird der Zahn gut ausgewaschen, in Ehrlich's saurem Hämatoxylin gefärbt, wieder gewaschen, in wässeriger Eosinlösung nachgefärbt; dann wird die Membran abgestreift und in Farrant'sches Gemisch eingeschlossen.

3. Anfertigung von Schnitten durch entkalkte Knochen und Zähne.

Zu diesem Zwecke ist eine Entkalkungsmethode zu wählen, welche die kollagenen Fibrillen der Grundsubstanz möglichst unversehrt erhält (siehe »Entkalkung«). Die weitere Behandlung der entkalkten Objekte ist die gleiche wie bei anderen Schnittpräparaten, nur ist für die Einbettung besonders endochondraler Verknöcherungspräparate entschieden der Celloidinmethode der Vorzug zu geben, da die leimgebenden Fibrillen und der hyaline Knorpel auch gegen Erwärmung sehr empfindlich sind.

Besonders sei hier darauf hingewiesen, welche Vortheile die Entkalkung nach vorhergegangener sorgfältiger Einbettung in Celloidin bietet: sie soll besonders bei zarten, verschieblichen Knochenbildungen (Spongiosa, Osteophytbildungen, Gehörknöchelchen u. s. w.) und bei Zähnen jugendlicher Individuen angewendet werden, da sie eine Kompression und Lageveränderung der zarten Knochenbälkchen verhütet und die Erhaltung der organischen Substanz des Schmelzes, sowie des Schmelzoberhäutchens in situ ermöglicht.

4. Die Darstellung der protoplasmatischen Einschlüsse der Knochengrundsubstanz und des Zahnbeins (Osteocyten und Ausläufer der Odontoblasten, Zahnbeinfasern).

Man kann dieselben entweder isoliren oder an Schnitten (Schliffen) durch Färbung, Imprägnation oder eine chemische Veränderung in situ deutlich hervortreten lassen.

Die Isolation der protoplasmatischen Knochenzellen, Osteocyten, gelingt verhältnissmässig leicht aus embryonalen Knochen; Broesike[18]) (pag. 732) empfiehlt zu diesem Zwecke Behandlung mit starker Salz- oder Salpetersäure, Kochen in starker Essigsäure oder Pepsinverdauung: behandelt man macerirten Knochen Erwachsener auf dieselbe Weise, so isolirt man nicht die Zellen, sondern ihre Grenzscheiden (vergl. Kap. 6a); Bonnet[13]) schonende Entkalkung ganz frischer, dünner Knochenplättchen (Siebbeinlabyrinth von Mäusen), Färbung derselben und Zerzupfung in Glycerin. Besser ist es, frische, dünne Knochenplättchen mit Fixirungsmitteln zu behandeln, welche zugleich entkalken [Hermann'sches Gemisch, Schiefferdecker[122]), Flemming's Gemisch] und dann mit Nadeln zu zerzupfen.

So gelingt es nicht selten, besonders wieder an embryonalen Knochen, die Zellen wenigstens theilweise zu isoliren.

Die protoplasmatischen Zahnbeinfasern hat J. Tomes[137]) isolirt, indem er von frisch gezogenen Zähnen dünne Schnitte in der Ebene des Kanälchenverlaufs machte und diese Schnitte entweder in der Richtung der Kanälchen mit dem Messer zertheilte, wobei die Fasern meist kurz abbrechen, oder mit verdünnter Salzsäure entkalkte und dann zerzupfte. Um

die Zahnbeinfasern wenigstens auf längere Strecken im Zusammenhange mit dem Odontoblastenkörper zu isoliren, nimmt man in Müller'scher Flüssigkeit gut erhärtete Milchzähne, sprengt die Pulpahöhle auf, zieht ein Stück der oberflächlichen Pulpalage heraus und zerzupft es ohne oder nach vorhergegangener Färbung mit Nadeln in Glycerinwasser.

Boll[12]) brachte einen frischen Zahn in dünne Chromsäure, deren Koncentration er durch tägliche Zusätze auf 2% und darüber steigerte. Dann setzte er noch einige Tropfen Salzsäure zu, wodurch die Grundsubstanz zu einer fast breiigen Masse wird. Durch Zerzupfen derselben erhielt er Präparate, an denen die Zahnbeinscheiden und aus diesen hervorragend die Zahnbeinfasern auf kurze Strecken isolirt erscheinen.

Zur Darstellung der feinen verzweigten, peripheren Enden sind diese Isolationsmethoden jedoch unzureichend, ebenso wie zur Entscheidung der Frage nach dem Vorhandensein protoplasmatischer Ausläufer der Knochenzellen in den Kanälchen. Wohl aber kann da die Anwendung von starken Alkalien zum Ziele führen.

Man bringt nach Zachariades[150]) einen Schnitt durch frisch fixirten und entkalkten Knochen auf den Objektträger, behandelt ihn einige Sekunden mit 1%iger Osmiumsäure (zur Fixirung des Protoplasmanetzes!), wäscht aus und färbt ihn kurz mit einem Tropfen wässeriger, gesättigter Safraninlösung (oder 24 Stunden in schwacher wässeriger Lösung von Chinoleïnblau). Dann wird der Schnitt mit einigen Tropfen 40%iger Kalilauge bedeckt und leicht erwärmt, bis er sich nach anfänglicher Schrumpfung wieder glättet. Die überschüssige Kalilauge wird abgesaugt und nun bedecke ich ihn mit dem hängenden Tropfen Glycerinwasser. (Versucht man, den Schnitt mit Wasser zu waschen, wie Zachariades empfiehlt, so löst er sich ganz auf.) Das Ergebniss der Methode ist verschieden, je nach Grad und Dauer der Einwirkung der Kalilauge. Im Beginne derselben und bei nur leichtem Erwärmen gelingt es, die Grenzscheiden der Lakunen und ihrer Ausläufer sammt ihrem Inhalt theilweise als zusammenhängendes Netz zu isoliren (das »protoplasmatische Netz« von Zachariades). Nach längerer Einwirkung lösen sich die Grenzscheiden auf und man erhält zackige Protoplasmakörper mit kürzeren und auch längeren Ausläufern, die aber im lamellären Knochen niemals dem Reichthum an Kanälchen entsprechen, noch so reiche netzartige Anastomosen bilden.

Aus macerirten und entkalkten Schnitten kann man, wie Zachariades behauptet, in der That bei der gleichen Behandlung keine »Knochenkörperchen« isoliren. Dies dürfte aber seinen Grund in der durch den Macerationsprocess gesteigerten, bekannten (Broesike[18]) Empfindlichkeit der Grenzscheiden gegen Kalilauge haben.

Zur Isolation der Zahnbeinfasern haben sich, nach einer (mir nicht zugänglichen) Mittheilung, Malassez und Galippe des Kaliumhypochlorits (Eau de Javelle) und anderer Hypochlorite bedient [Zachariades[148]), pag. 632]. Sie gelingt auch mittels der Kalilaugenmethode von Zachariades. Man hat sich aber auch bemüht, die Knochenzellen und Zahnbeinfasern in situ durch Färbung von der Grundsubstanz zu differenziren.

Dies gelingt beim embryonalen Knochengewebe oder bei dem niederer Thiere leicht durch verhältnissmässig einfache Färbungen. Im lamellären Knochengewebe ist bisher auch mittelst komplicirter Färbungsmethoden ein zweifelloser Nachweis anastomosirender, protoplasmatischer Zellausläufer in den Kanälchen der Lakunen nicht erbracht worden.

Ich verweise hier auf meine Bemerkungen über diese Frage an anderer Stelle[121]) (pag. 183 u. f.), welche ich aber dahin erweitern möchte, dass ich nunmehr im lamellären Knochen Erwachsener neben bald plättchenförmigen, bald leicht zackigen Zellen auch solche mit längeren anastomosirenden Ausläufern durch die Kalilaugenmethode von Zachariades für nachweisbar halte.

Zum Nachweise kernhaltiger Protoplasmakörper in den Lakunen genügen die gewöhnlichen Färbemethoden. Eine der einfachsten

und ältesten besteht darin, dass man frische, dünne Knochenplättchen durch Schaben mit einem Skalpell vom Periost befreit, in Karmin färbt und in Glycerin einschliesst. VOLKMANN[141]) hat an solchen Plättchen durch stark verdünnte schwarze Tinte die Zellgrenzen deutlich sichtbar gemacht. ROLLETT[112]) färbt dünne Schnitte von mittels Chromsäure oder Chromsalzsäure entkalkten Knochen mit Karmin. Gute Bilder von Knochenzellen erhält man durch Doppelfärbung dünner Schnitte noch unverkalkter, mit Sublimat oder ZENKER'scher Flüssigkeit fixirter (RETTERER[106]) embryonaler Knochen mit Hämalauneosin oder DELAFIELD's Hämatoxylin-Kongoroth. An solchen Präparaten treten auch die protoplasmatischen Ausläufer der Zellen deutlich hervor.

Grossen Schwierigkeiten begegnet die Deutung der Bildor jedoch im lamellären Knochen, wie schon die grosse Anzahl der empfohlenen Methoden zeigt.

Färbt man dünne Schnitte von lamellären Knochen, die in Formol oder im Gemische dieses mit MÜLLER'scher Flüssigkeit fixirt und in Formolsalpetersäure entkalkt worden sind, mit DELAFIELD's Hämatoxylin (verdünnte Lösung über Nacht) und allenfalls noch mit Eosin oder Kongoroth, so erhält man sehr zierliche Bilder der »Knochenkörperchen«.

Die Mehrzahl der Lakunen erscheint an solchen Präparaten durch einen tiefblau gefärbten Saum gegen den roth gefärbten Knochen abgegrenzt; anscheinend von diesem Saum ausgehend, sieht man die feinen Ausläufer graublau gefärbt und scharf differenzirt die Grundsubstanz durchziehen. Der Protoplasmakörper färbt sich bei dieser Methode roth und kann man nur selten zweifellose Fortsätze desselben durch die blau gefärbte Grenzscheide der Lakune sich weiter fortsetzen sehen, so dass ich die gefärbten Ausläufer vorwiegend auf die Grenzscheiden der Kanälchen beziehen muss. Da die Erweichung der Knochen bei der Entkalkung und die dadurch bedingte Zusammendrückbarkeit derselben beim Schneiden auf die Wahrnehmbarkeit der ungemein zarten Ausläufer der Zellen nicht ohne Einfluss sein kann, ist die folgende Methode von ZACHARIADES[148]) (pag. 245) von grosser Bedeutung in dieser Frage. Färbt man einen gut polirten Schliff vom frischen Knochen (Befeuchtung der Schleifsteine mit $^1/_2$%iger Kochsalzlösung) 24 Stunden in wässeriger Chinoleïnblaulösung (einige Tropfen der alkoholischen Lösung auf 10 Ccm. destillirten Wassers; die entstehenden Niederschläge sind vor Einschluss des Schliffes abzupinseln), so färben sich die Knochenzellen metachromatisch röthlich und auch die Ausläufer treten stellenweise deutlich und scharf hervor. Ich habe mich der Metakarpalknochen des Kalbes hierzu bedient und gefunden, dass besonders an den unregelmässigen Knochenzellen des Wurzelstockes, die noch embryonalen Typus besitzen, diese Ausläufer stellenweise deutlich und zweifellos protoplasmatische Zellfortsätze darstellen, welche bei jeder Einstellung röthlich gefärbt und manchmal auch deutlich körnig erscheinen. Je frischer, d. h. rascher post mortem der Schliff in die Färbeflüssigkeit gebracht wird, desto besser gelingt die Färbung. Schwieriger ist die Entscheidung an den platten Zellen des lamellären Knochens. Die Ausläufer sind da ungemein zart, erscheinen aber auch röthlich gefärbt. Behandelt man einen nicht mehr frischen oder trockenen Schliff von macerirten Knochen in derselben Weise, so erhält man theils leere Lakunen und Kanälchen; letztere erscheinen bei hoher Einstellung auch röthlich (infolge der schwächeren Lichtbrechung), werden aber bei tiefer farblos. Einzelne Lakunen besitzen einen blau gefärbten Inhalt (Detritus).

Nach HEITZMANN[53]) treten die Ausläufer der Knochenzellen nach einfacher Entkalkung mit Milchsäure hervor.

RANVIER[101]) empfiehlt zur Färbung der Knochenzellen das Purpurin. Dasselbe wird in 200 Grm. $^1/_2$%iger Alaunlösung durch Kochen gelöst, heiss filtrirt und das Filtrat mit

60 Ccm. Alkohol von 96% gemengt. Färbung der entkalkten Schnitte durch 24—48 Stunden, Auswaschen in Wasser, Einschluss in Glycerin.

KRAUSE [68]) legt dünne Knochen in eine Mischung von 1%iger Osmiumsäure und 5%iger Salzsäure zu gleichen Theilen ein; unter günstigen Umständen bleibt die Grundsubstanz hell, die Knochenzellen gelblich, ihre Kerne zugleich deutlich.

Diese Beobachtung konnte ich auch an Schnitten durch Knochen machen, die in Pikrinsublimat fixirt und nach THOMA entkalkt worden waren.

CHEVASSU [22]) entkalkt zum Nachweis der protoplasmatischen Ausläufer in Pikrinsäure und färbt mit Essigsäurekarmin (SCHWEIGGER-SEIDEL) 12 Stunden in der feuchten Kammer; Einschluss in Glycerin, dem etwas von demselben Karmin zugesetzt ist. Auch RENAUT's Eosinhämatoxylin benutzte er mit Erfolg; Kerne der Knochenzellen dunkelviolett, Protoplasma roth, die Fortsätze desselben hellviolett.

CHIARUGI [23]) entkalkt in Pikrinsalpetersäure mit 2 Theilen Wasser verdünnt und färbt wenige Minuten in 1%iger Eosinlösung; dann werden die Schnitte in 3—4%iger Kalilauge gewaschen, bis kein Farbstoff weggeht, auf einige Stunden in 1%ige Alaunlösung übertragen, in dieser untersucht und aufbewahrt, wozu sie aber sterilisirt sein muss. Solche Präparate sollen die Anastomosen der Protoplasmaausläufer zeigen. (Für den lamellären Knochen konnte ich dies nicht bestätigen; eine Täuschung durch Niederschläge, welche Alaun und Eosin geben, ist nicht ausgeschlossen.)

STEPHAN [130]) (pag. 304) konnte an verschiedenen Fischknochen ausser durch die Kalilaugenmethode auch durch Färbung mit Eosin und nachfolgende Differenzirung mittels Ameisensäure, Färbung mit Thionin und anderen Anilinfarben, endlich Hämatoxylineosin protoplasmatische Ausläufer der Knochenzellen darstellen. Jedoch verhalten sich da nicht alle Arten gleich; während bei Lepidosteus die einfachsten Methoden genügen, gelingt die Darstellung bei Protopterus und Polypterus nur schwer mit der Kalilaugenmethode.

Endlich wurden zur Darstellung der Knochenzellen auch die Goldimprägnation und die GOLGI'sche Chromsilbermethode mit theilweisen Abänderungen empfohlen.

JOSEPH [58]), sowie HEITZMANN bedienten sich der Goldmethode zur Darstellung der Knochenzellen. Ersterer brachte die Knochenstückchen (Schädelknochen von Tritonen) auf 1—1½ Stunde in 1%ige Goldchloridlösung und reducirte in Wasser, das mit einigen Tropfen Essigsäure versetzt war. Anhaftendes Gewebe wurde mit einem feinen Messerchen unter der Goldlösung abgeschabt. Nach 24—36 Stunden wurden feine Schnitte mit dem Rasirmesser angefertigt und in Glycerin untersucht. Nach HEITZMANN [53]) sollen an solchen Präparaten die dunkelvioletten Knochenzellen auf dem blassvioletten Grunde scharf hervortreten und Anastomosen zu sehen sein, die JOSEPH vermisste. KRAUSE [68]) führt die Bilder von Anastomosen auf die Reduktion durch die eiweisshaltige Flüssigkeit in den Kanälchen zurück.

J. HART [49]) konnte die Zahnbeinfasern mit ihren feinsten Verzweigungen färben, indem er gut gereinigte Schliffe von ganz frischen Zähnen (Befeuchtung der Schleifsteine mit Kochsalzlösung) auf 10 Stunden vor Licht geschützt in 1%iges Goldchlorid brachte. Dann wurden sie auf eben so lange Zeit (mit Holzspatel) in 6%igen Eisessig übertragen, weiter im Lichte reducirt und in chemisch reines Glycerin eingeschlossen.

LEPKOWSKI [75]) empfiehlt zu demselben Zwecke Sägeschnitte von ½ bis ¾ Mm. Dicke auf 24 Stunden in ein Gemisch von 6 Theilen 1%iger Goldchloridlösung und 3 Theilen reiner Ameisensäure einzulegen; waschen in destillirtem Wasser, reduciren in einer Mischung von Gummi arabicum und Glycerin 24 Stunden; abermals waschen, entwässern, Einbettung in Celloidin oder Paraffin.

Die Methode erscheint vom chemischen Standpunkte aus zum mindesten sehr verschwenderisch, da die Hauptmasse des Goldes durch die Ameisensäure reducirt wird. Der Rest genügt aber, um in der That die Zahnbeinfasern stellenweise scharf gefärbt hervortreten zu lassen. Jedoch ist das Ergebniss kein durchaus gleichmässiges. Am Abgange der Zahnbeinfasern finde ich diese meist ungefärbt, dagegen die Wandung der Kanälchen diffus blaugrau gefärbt. Weiters findet man Niederschläge deutlich zwischen Fasern und Kanälchenwand; endlich können die Fasern selbst intensiv schwarzblau imprägnirt hervortreten. Die feinen Seiten- und Endfiederchen sind meist schwächer gefärbt, treten aber an günstigen Stellen immerhin in imponirender Menge hervor. Die Deutung der Bilder erfordert daher Vorsicht. RUDAS [116]) hat die Methode meiner Kritik gegenüber [121]) (pag. 181) in Schutz genommen, konnte aber selbst mittels derselben weder eine Färbung, noch eine vollständige

Entkalkung entzielen. Dazu darf man allerdings nicht die frischen Zähne unter Wasser zerschneiden und eine Ameisensäure von so geringem spec. Gewicht (1,06) wählen. Die hier käufliche concentrirte Säure besitzt ein solches von 1,2.

Wenn man die frischen, dünnen Zahnscheibchen zuerst in Goldchlorid bringt, dann reducirt, in reiner Ameisensäure (1,2) entkalkt und Celloidinschnitte anfertigt, so findet man das Gold von den Schnittflächen aus nur 20—40 µ tief, von der Cementoberfläche aus gar nicht eingedrungen. Dagegen dringt es von der Pulpahöhle längs der Zahnbeinfasern mehr minder weit vor und erscheinen hier die Zahnbeinscheiden scharf gefärbt. Färbt man einen solchen Schnitt noch mit DELAFIELD's Hämatoxylin und Eosin, so kann man die früher ungefärbten Zahnbeinfasern deutlich graublau gefärbt finden, als zarte, verästelte solide Fäserchen neben den dicken, hohlen Zahnbeinröhren. Diese Färbung betrifft aber nur solche Fasern, deren Scheiden von Gold nicht gefärbt waren.

Mittelst der GOLGI'schen Methode gelingt es, auch im lamellären Knochen den Inhalt der Lakunen und ihrer Ausläufer geschwärzt zu erhalten. Doch können diese Bilder kaum als Beweis für das Vorhandensein verzweigter und anastomosirender Knochenzellen gedeutet werden, da man ganz dieselben Bilder auch von macerirten und getrockneten Knochen erhalten kann.

TIRELLI [135]) bringt embryonale Schädelknochen (von fast ausgetragenen Meerschweinchenembryonen) auf 8 Tage in MÜLLER'sche Flüssigkeit, die öfter gewechselt wird, dann in das starke Osmiumbicbromatgemisch (1%ige Osmiumsäure 1 Theil, 3%iges Kaliumbichromat 4 Theile). Von da, nach längerem Auswaschen in destillirtem Wasser, in ³/₄%ige Silbersalpeterlösung im allgemeinen auf 30 Stunden. Entwässern, Aufhellen in Terpentinöl, Einschluss in Terpentinkanadabalsam. Die Knochenzellen erscheinen gruppenweise bis in die feinsten »Ausläufer« schwarz gefärbt.

VIVANTE [140]) bediente sich theils einer Abänderung der vorigen Methode, theils empfiehlt er eine Färbung mit Chinoleïnblau. Sehr kleine Stücke vom Stirnbein 4—6monatlicher Kälber werden nach dem Vorgehen von TIRELLI behandelt. Aus dem Silbersalpeter kommen sie dann zur Entkalkung auf 20 Tage in v. EBNER'S Kochsalzsäuregemisch, wodurch auch die Niederschläge grösstentheils entfernt werden sollen. Nach gründlichem Waschen übertragen in eine Lösung von kohlensaurem Natron, wieder auswaschen, nachhärten in Alkohol und einbetten in Paraffin. Die Schnitte werden mit Eiweiss aufgeklebt, mit Terpentinöl behandelt und in Damarfirnis eingeschlossen, wobei sie auch das Bedecken mit einem Deckglase ohne Schaden erlauben sollen.

Die zweite Methode VIVANTE'S ist folgende: Sehr kleine Knochenstückchen werden 5—6 Tage in FLEMMING'S Gemisch fixirt, ausgewaschen und, nach v. EBNER entkalkt (was bei sehr kleinen Stücken nicht nöthig ist), wieder ausgewaschen und in kohlensaures Natron übertragen. Einbettung in Paraffin; Entfernen des Paraffins aus den Schnitten durch Terpentinöl; absoluter Alkohol. Dann kommen die Schnitte in eine 0,2%ige, alkoholisch-wässerige (die alkoholische Lösung ist mit 1 Theil Wasser zu verdünnen) Lösung von Chinoleïnblau, welches sie binnen 1 Stunde tief violett färbt. Differenziren in beiläufig 50%igem Alkohol, bis die Schnitte hellblau werden, und in Wasser übertragen.

Die Entfärbung muss in dem Momente unterbrochen werden, in dem der Gegensatz in der Färbung von Zellen und Grundsubstanz am stärksten ist. Dann werden die Schnitte bei 40° C. (im Brutofen) langsam getrocknet, mit Bergamottöl aufgehellt und in Damarfirnis eingeschlossen.

BOUIN [14]) empfiehlt zur Darstellung der Protoplasmaausläufer die Knochen neugeborner Blindschleichen nach GOLGI zu behandeln, aber nur 2 Tage im Osmiumbichromatgemisch liegen zu lassen, da sie nach längerem Verweilen nicht mehr hervortreten sollen.

Hieher gehört auch die Chromsilbermethode von RÖSE [111]), über welche man Kap. 6a vergleichen möge.

5. Darstellung des Kanalsystems im Knochen und Zahnbein.

Um die Anordnung und Verlaufsweise der Gefässkanäle im Knochengewebe deutlich zur Anschauung zu bringen, füllt man dieselben mit Farbstoffen oder färbt ihre Wandungen.

Zu diesem Zwecke injicirt man entweder einen gut macerirten und getrockneten Röhrenknochen vom Foramen nutritium aus mit löslichem Berlinerblau und verarbeitet den trockenen Knochen zu Schliffen, oder man nimmt nach Ranvier's [103]) (pag. 252) Angabe die Füllung der Kanäle, beziehungsweise die Färbung ihrer Wandungen erst an den Schliffen vor.

Man überträgt die polirten Schliffe auf 10—20 Stunden in eine koncentrirte, ammoniakalische Karminlösung, lässt sie trocknen und schleift dann die beiden Flächen auf einem mit Alkohol befeuchteten Wetzsteine ab, bis die gefärbten Oberflächenschichten entfernt sind. Colquhoun [26]) hat versucht, Farben durch das Kanalsystem des frischen Knochen zu treiben, worüber weiter unten.

Uebrigens gelingt es fast mit sämmtlichen Methoden, welche zur Füllung der Lakunen und ihrer Ausläufer dienen, auch die Havers'schen Kanäle deutlich zur Darstellung zu bringen; nur sind für den letzteren Zweck, wenn es sich um Uebersichtsbilder handelt, dicke, stark aufgehellte Schliffe bei Lupenvergrösserung zu untersuchen.

Ich bespreche daher jetzt jene Methoden, welche die Lakunen und Knochenkanälchen, beziehungsweise die Dentinröhrchen deutlich hervortreten lassen.

Die älteste und einfachste dieser Methoden ist die Füllung mit Luft. An dünnen und vollkommen polirten Trockenschliffen gut macerirter Knochen oder Zähne erscheinen die Lakunen und ihre Ausläufer, beziehungsweise die Dentinröhrchen bis in die feinsten Zweigchen hinein mit Luft erfüllt und treten dadurch im durchfallenden Lichte schwarz auf weissem Grunde, im auffallenden weiss auf schwarzem Grunde hervor. Nach längerem Liegen in Flüssigkeit verschwindet das Bild grösstentheils; Lawdowsky [73]) empfiehlt daher, die Schliffe vor dem Einschluss in Balsam mit einem dünnen Ueberzug von Gummi arabicum zu versehen. Frey [44]) verwendet zu demselben Zwecke eine warme Lösung filtrirter Gelatine.

Um auch Schliffe, an denen die Schleifspuren nicht ganz entfernt wurden, mit Erhaltung der Luftinjektion durchsichtig zu machen, bedient man sich aber am besten des von Krukenberg [69]) angegebenen Verfahrens des Einschlusses in harten Kanadabalsam.

Auf dem Objektträger und dem Deckglas wird je ein Tropfen dicken Kanadabalsams vorsichtig über nicht russender Flamme erwärmt, bis er rasch nach dem Erkalten erstarrt. Dann legt man den entfetteten und gut getrockneten Schliff zwischen beide harte Balsamlagen, verflüssigt durch abermaliges Erwärmen flüchtig den Balsam, drückt gleichmässig das Deckglas auf und legt den Objektträger zur Abkühlung auf eine Metallplatte. Die Unebenheiten der Oberflächen erscheinen ausgeglichen, Lakunen und Kanälchen mit Luft gefüllt. War nicht alles Terpentin aus dem Balsam verdrängt, so kann letzterer bei zu langem Erwärmen oder im Laufe der Jahre doch noch in die lufthaltigen Räume des Knochens eindringen; um dies zu vermeiden, hat v. Ebner [31]), besonders zum Einschlusse veraschter Schliffe, bei denen es sich um die Luftfüllung der Fibrillenröhren handelt, empfohlen, an Stelle des dickflüssigen, ganz alten, bereits fest und krümelig gewordenen Balsam zu nehmen. »Dabei ist es allerdings nicht möglich, alle Luft aus dem Balsam durch Erwärmen auszutreiben.«

Um auch an Schnitten entkalkten Knochens, an denen Lakunen und Kanälchen im allgemeinen wenig deutlich hervortreten, dieselben durch Luftfüllung darzustellen, empfiehlt Flemming [39]) folgende Methode: Der Knochen wird in einem Gemisch von Chromsäure, Salzsäure und Alkohol entkalkt; die Schnitte werden aus Wasser auf Glasplatten aufgetragen, mit Glasplatten bedeckt und so eingepresst in Alkohol gehärtet, damit sie sich nicht rollen. Aus absolutem Alkohol oder Aether werden sie feucht auf den Objektträger gebracht, mit Filtrirpapier und einer zweiten Glasplatte bedeckt und getrocknet. (Für den Einzelnen genügt es, den Schnitt mit dem Deckglas zu bedecken und mit einer der gebräuchlichen Drahtklemmen ein-

gepresst trocknen zu lassen.) Einschluss nach KRUKENBERG's Methode (siehe oben).

Man darf nicht zu dünne Schnitte nehmen; trotzdem gelingt die Luftfüllung nur in kleineren Partien der Präparate.

Leicht gelingt es auch am frischen, noch zellenhaltigen Knochen, Höhlen und Kanälchen bis in die feinsten Verzweigungen hinein durch Gasfüllung kenntlich zu machen.

»Wenn man von einem eben getödteten Thiere dünne Knochenplättchen (Vomer) mit ihrer Schleimhaut-, resp. Periostumhüllung unter Wasser von ihren Weichtheilen befreit, so wird man stets unter dem Mikroskope das bekannte, dunkle Aussehen der sogenannten Knochenkörperchen und des von ihnen ausgehenden Kanalsystems wahrnehmen, das vollständig mit dem eines trockenen Knochenschliffes übereinstimmt.« Auf diese Beobachtung gestützt, glaubte KLEBS [61]), dass die sternförmigen Höhlen und die feinen Kanäle des ausgebildeten Knochens mit Kohlensäure gefüllt sind.

Ohne hier auf eine Erörterung dieses Befundes einzugehen [siehe darüber meine Mittheilung [121]), pag. 187], sei nur hervorgehoben, dass von der Gasfüllung an frisch in indifferenten Zusatzflüssigkeiten untersuchten Knochenplättchen nichts zu sehen ist, wie nach mir auch EWALD [36]) betonte.

Dieselbe tritt aber alsbald auf, wenn man dünne Knochenbälkchen oder -plättchen ganz frisch in Terpentin (BRÖSIKE [18]), Glycerin [v. RECKLINGHAUSEN [104]), SCHAFFER [121])], absolutem Alkohol, Osmiumsäure (EWALD [36]) untersucht. Letzterer empfiehlt daher, die dünnen Knochenplättchen der Kiemendeckel kleiner Fische auf 1—6 Stunden in absoluten Alkohol zu bringen, in Nelkenöl aufzuhellen und in Xylolkanadabalsam einzuschliessen. Es erscheinen dann sämmtliche Knochenlakunen sammt ihren feinsten Ausläufern mit Luft gefüllt.

Zu demselben Zwecke hat schon früher v. RECKLINGHAUSEN [104]) empfohlen, Schnitte von in Alkohol oder MÜLLER'scher Flüssigkeit erhärteten Knochen mittels eines starken Messers anzufertigen, sie mit absolutem Alkohol, dann Aether oder Chloroform (»schon H. MÜLLER wusste es. auch TOMES und MORGAN führen es an, dass Chloroform die Knochenkörperchen sehr deutlich macht«) zu behandeln, sie flüchtig auf dem Objektträger eintrocknen zu lassen und in Glycerin, Knochenöl oder dickflüssigem Wasserglas einzubetten. Bei Anwendung des letzteren bedeckt man statt mit dem Deckgläschen, wegen der nachfolgenden Erstarrung besser mit einem Gypsplättchen.

Ein zweites Verfahren desselben Autors, die sogenannte Alaunmethode, besteht in der Behandlung der Schnitte mit Alaunlösung, welche man am besten mit kohlensäurehaltigem Wasser herstellt. Vollkommen genügt schon ein Minuten langes bis $^1/_4$stündiges Eintauchen in eine stark alaunhaltige Lösung von Alaunkarmin. Eingeschlossen werden die Schnitte in Glycerin oder Alaunglycerin. Will man Dauerpräparate erhalten, so muss man die glyceringetränkten Präparate im Zustande vollster Gasinjektion und leicht abgetupft in Wasserglas einbetten.

Diese Methoden v. RECKLINGHAUSEN's eignen sich im allgemeinen wenig für histologische Untersuchungen, da sie nur die Anfertigung kleiner, meist durch Risse verunstalteter Schnitte gestatten und die Gasinjektion nur kurze Zeit erhalten werden kann. Um die Haltbarkeit derselben zu erhöhen, empfiehlt APOLANT [4]) den Einschluss in Glyceringelatine. Eine kleine Menge derselben wird auf Deckglas und Objektträger gebracht, flüchtig erwärmt, das Präparat im Zustande vollster Gasinjektion rasch eingebettet und sofort auf einer Metallplatte abgekühlt.

Um an Schliffen von macerirten Zähnen die feinen Seiten- und Endfiederchen der Dentinröhrchen mit Gas zu füllen, hat BAUME* die Schliffe kurze Zeit in Essigsäure oder Alaunlösung eingelegt.

Zahlreich sind die Methoden, Lakunen und Kanälchen mit Farbstoffen zu erfüllen, welche sich in der Untersuchungsflüssigkeit nicht lösen.

GERLACH[47]) hat zuerst in den Lakunen und Kanälchen einen Niederschlag von Berlinerblau erzeugt. Die Knochenschliffe kommen aus Wasser in koncentrirte Lösung von Ferrocyankalium, in welcher sie 12 Stunden bleiben. Dann kommen sie auf 6 Stunden in koncentrirte Lösung von Eisensulfat, werden sorgfältig mittels feiner Läppchen gereiuigt und an der Luft vollkommen getrocknet. Darnach werden dieselben mit Oel nochmals geschliffen (zwischen zwei Schleifsteinen), bis sie den höchsten Grad der Feinheit erlangt haben, und in Terpentinöl untersucht.

Ein zweites Verfahren GERLACH'S[48]) (pag. 164) besteht in der Injection des Kanalsystems (mit ammoniakalischem Karmin** von der Markhöhle aus. Kleine, gut macerirte und sorgfältig entfettete Röhrenknochen werden an der Epiphyse zur Aufnahme der Kanüle angebohrt und dann die ganze Oberfläche des Knochens mit Schellack überzogen. Mittels dieser Methode können jedoch nur wenige Lakunen und Kanälchen gefüllt werden, da die Luft aus denselben nicht entweichen kann (nach HARTING[50]); nach einer freundlichen Mittheilung L. GERLACH'S soll beim Firnissen eine kleine Stelle zum Luftaustritt frei bleiben und der Knochen vor der Injektion, die bei sehr starkem Druck vorgenommen wird, etwas erwärmt werden. HARTING[50]) verwendete zur Füllung der Lakunen und ihrer Ausläufer im Wasserbade eingedicktes Extrakt der gepulverten Alkannawurzel mit Terpentinöl, in welches die Schliffe auf 4—6 Tage unter die Luftpumpe gebracht wurden. Solche Präparate lassen sich nicht in Kanadabalsam aufbewahren.

RANVIER[102]) empfiehlt zu demselben Zwecke folgende Methode: Die gut polirten Schliffe werden mit scharfem Skalpell abgeschabt, um das Schleifpulver, welches die Mündungen der Kanälchen verstopft, zu entfernen und kommen dann auf 1—2 Stunden in eine alkoholische Lösung von in Wasser unlöslichem Anilinblau, in welcher sie schliesslich auf dem Wasserbade bis zur vollständigen Eintrocknung erhitzt werden. Dann schleift man beide Oberflächen in 2%iger Kochsalzlösung ab und schliesst in salzhaltigem Glycerin ein.

Die schärfsten Bilder erhält man mittels einer Modifikation dieser Methode, welche den Einschluss der Schliffe in Lack oder Balsam gestattet und die meisten übrigen derartigen Füllungsmethoden entbehrlich macht. Eine solche ist zuerst von ZIMMERMANN, eine weitere von RUPRECHT gegeben worden.

ZIMMERMANN[153]) bringt dünne Schliffe, welche in Xylol entfettet und gut getrocknet wurden (beides ist unerlässlich für das Gelingen des Verfahrens) in eine alkoholische, gesättigte Fuchsinlösung, in welcher sie wiederholt mehrere Minuten gekocht und langsam abgekühlt werden. Dann wird der Schliff auf die Schenkel einer Pincette gelegt, so dass beide Flächen noch dick mit Farbstofflösung bedeckt sind und lässt man ihn da 2—3 Tage trocknen, schabt dann den Ueberschuss an Farbstoff mit einem Skalpell vorsichtig ab, schleift ihn nochmals in Xylol mittels des Fingers, pinselt ihn in Xylol ab und schliesst ihn in Xylolkanadabalsam ein. Durch vorhergehendes Erhitzen des Präparates tritt die Struktur des Knochengewebes deutlicher hervor.

---

* Nach RÖSE[109]); ich fand bei BAUME (Odontolog. Forschungen, 1. Th., pag. 103 und im Lehrbuch) nur Essigsäure empfohlen.

** J. GERLACH erwähnt diesen Farbstoff nicht an der citirten Stelle, doch nennt ihn HARTING[50]) (Bd. 2, pag. 134).

RUPRECHT [117]) hat aus verschiedenen Gründen die Methode ZIMMERMANN's modificirt und schlägt folgendes Verfahren vor: Ein Sägeschnitt von einem völlig fettfreien, gut macerirten Knochen wird mit den Feilen auf eine Dicke von 0,3 Mm. gebracht. Dazu müssen grosse Schnitte aufgekittet werden; kleinere legt man auf das vordere Ende einer groben, fest auf dem Tisch liegenden Feile und bearbeitet sie mit dem Ende einer anderen, etwas feineren. Der Feilstaub wird durch wiederholtes Abziehen mit einem Skalpell von beiden Seiten entfernt (RANVIER); dann erhitzt man den trockenen, für einige Minuten in Aether gelegten Schnitt schnell auf einer Glasplatte und lässt ihn von hier heiss wieder in den Aether gleiten, wobei dieser etwas aufzischen muss. Nach fünf Minuten bringt man den Schnitt in siedende koncentrirte und filtrirte Lösung von Diamantfuchsin in absolutem Alkohol schnell und flach ein, lässt fünf Minuten kochen, dann erkalten und dampft dann das Farbbad sammt den Schnitten bei 70° C. zur Trockne ein. Der überschüssige Farbstoff wird mit dem Messer abgekratzt. Dann wird der Schnitt zwischen zwei matten Glasplatten mit Bimsstein, den man mit wasserfreiem Benzin 10 Theile auf Vaselinöl 1 Theil verreibt, geschliffen, auf dem Arkansasstein mit dem Finger ebenfalls mit Benzolvaselinöl nachgeschliffen, dann mit Benzin gut abgewaschen, getrocknet und zwischen Schreibpapier polirt. Zur Einbettung der Schliffe empfiehlt er helles Kolophonium, das in wasserfreiem, erwärmtem Benzol gelöst wird und beim Erkalten eine zähflüssige Konsistenz zeigt. Objektträger und Deckglas sind zu erwärmen, nach dem Einschluss zu beschweren. Weniger gute, aber leidliche Resultate ergeben auch Indulin, Bleu de Lyon und Methylviolett.

Nur der Vollständigkeit wegen erwähne ich noch die Methoden von WHITE und MATSCHINSKY. WHITE [147]) infiltrirt die Schliffe mit einer Kollodiumlösung, die mit Fuchsin gefärbt wird. Die mässig dünnen Schliffe kommen auf 24 Stunden oder länger in Aether und dann auf 3—4 Tage in die Farb-Kollodiumlösung, welche man sich bereitet, indem man Fuchsin in Aether-Alkohol löst und dann Schiessbaumwolle zusetzt. Aus dem Kollodium werden die Stücke in Alkohol von 70—80 Procent gebracht und können dann noch dünner geschliffen werden. Einschluss in dickem Kanadabalsam oder Styrax, ohne oder mit nur geringem Erwärmen.

MATSCHINSKY [83]) sucht die Kanälchen durch Versilberung von Schliffen deutlich sichtbar zu machen. Er bringt dünne, sorgfältig polirte Schliffe in Wasser, dann in 1 %ige Silbersalpeterlösung auf 5—6 Stunden im Wärmeschrank. Nachdem man sie dem Lichte ausgesetzt hat, werden sie in destillirtem Wasser gewaschen, wieder auf einem Schleifsteine oder Mattglas abgerieben, getrocknet und in flüssigem Balsam eingeschlossen. Man kann auch unpolirte Schliffe nehmen, die dann aber 24 Stunden in der Silberlösung bleiben, nach dem Trocknen polirt, allenfalls abermals in die Silberlösung gebracht werden müssen.

Auch an lebenden oder frischen Knochen hat man versucht, die Knochenkanälchen durch Farbstoffe deutlich zu machen.

ARNOLD [6]) hat den Farbstoff lebenden Thieren ins Blut einverleibt, und zwar infundirte er Fröschen grössere Mengen von 0.2 %iger Lösung von Indigkarmin innerhalb 24—48 Stunden. Die Knochen kamen dann gewöhnlich in absoluten Alkohol, dem nach 24 Stunden koncentrirte Salzsäure (4 : 100) zugesetzt wurde. In 24—48 Stunden sind die Knochen schnittfähig und werden die Schnitte in mit Chlorkalium gesättigtem Glycerin oder in Kanadabalsam eingeschlossen. Neben den Knochenkanälchen können an solchen Schnitten auch die Lakunen mehr oder minder vollständig mit dem Farbstoff gefüllt erscheinen.

COLQUHOUN [26]) suchte Niederschläge in den Kanälchen der frischen Knochen hervorzurufen. Dünne Scheiben werden für einige Tage in eine 3 %ige Lösung von doppeltchromsaurem Kali eingelegt; dann wird eine Fläche glatt geschliffen und das Plättchen auf 1—2 Wochen im Dunkeln in 1 %ige Lösung von salpetersaurem Silber übertragen und nach der v. KOCH-schen Methode geschliffen. Da das Silber nur wenig tief eindringt, darf man mit dem Schleifen nicht zu weit gehen; dann wird der Balsam erwärmt,

der Schliff umgekehrt und weiter geschliffen. Alle Lakunen und Kanälchen erscheinen dann schwarz. Auch Sublimatfixirung und nachfolgende Behandlung mit verdünntem Schwefelammonium kann angewendet werden. Man kann nach Entkalkung in Chromessigsäure auch Schnitte anfertigen.

Um an Schnitten das Kanalsystem, beziehungsweise Lakunen und Kanälchen deutlich hervortreten zu lassen, hat bereits J. GERLACH[48]) die nach seiner Methode mit Karmin injicirten Knochen entkalkt und geschnitten. Aehnliche Versuche habe ich an Zähnen durch Injektion einer Berlinerblau-Leimlösung gemacht; die durch Härtung in Formol säurefest gewordene Leimmasse* gestattet die nachfolgende Entkalkung.

Ausserdem kommen hier die bereits erwähnten Verfahren von FLEMMING, ARNOLD und COLQHOUN, sowie die ALTMANN'sche Methode der Oelinjektion und die Thionin-Pikrinsäurefärbung von SCHMORL in Betracht. Bei der ersteren[1]) werden kleinste Stücke gut entfetteten und macerirten Knochens auf 8 Tage, am besten unter der Luftpumpe, in ein Gemenge von Olivenöl 2, Aether sulf. 1, Alkohol absol. 1 oder 2 Theile Ricinusöl und 1 Theil absoluten Alkohol gebracht, dann gut mit Wasser abgespült und auf 24 Stunden in 5%ige Osmiumsäure gebracht, wieder ausgewaschen und nach einer der gebräuchlichen Methoden entkalkt. Will man die Stückchen einbetten, so muss man die Paraffinmethode wählen und dabei, ebenso wie bei der Aufhellung und dem Einschluss der Schnitte alle Substanzen vermeiden, die osmirtes Fett lösen. Mir ergab diese Methode nur eine unvollständige Füllung der Lakunen und Kanälchen.

SCHMORL[123]) härtet die Knochen in MÜLLER'scher Flüssigkeit, Formol oder in einem Gemisch beider (100 : 10), entkalkt nach v. EBNER, THOMA, in Formol-Salpetersäure oder einem Gemisch von MÜLLER'scher Flüssigkeit und Salpetersäure (100 : 3). Die Celloidinschnitte werden gut ausgewaschen und kommen auf 5—10 Minuten oder länger in eine wässerige Thioninlösung (2 Ccm. einer »koncentrirten« Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol auf 10 Ccm. Wasser [neuerdings[124]) 16 Ccm. Wasser]: dann werden sie in Wasser abgespült, auf 1/2—1 Minute in warmgesättigte Pikrinsäure übertragen, abermals in Wasser abgespült, in 70%igen Alkohol übertragen (10 Min.), entwässert in 96%igem Alkohol, in Origanumöl aufgehellt und in Balsam eingeschlossen. Es bildet sich ein feiner Niederschlag in den Lakunen und Kanälchen, aber auch in anderen Gewebespalten. Die Schnitte können mit DELAFIELD's Hämatoxylin vor- oder nachgefärbt werden.

Wenn die Methode gelingt, giebt sie vorzügliche Bilder, auch für die Darstellung der Zahnbeinkanälchen und ihrer Ausläufer. Sie ist aber recht empfindlich und erfordert exaktes Arbeiten. Wesentlich scheint es, frische, gut und rasch fixirte (Formol bei 37° C.) und schonend, ohne Quellung entkalkte Knochen zu verwenden. Die Schnitte dürfen nicht mehr sauer reagiren, weshalb es gut ist, sie vor der Färbung leicht alkalisch zu machen oder, nach SCHMORL, der Farblösung 1—2 Tropfen Ammoniak zuzusetzen. Die Differenzirung im Alkohol ist genau zu überwachen und muss dieser, wie das Wasser, in dem man nur kurz abspült, sicher neutral sein.

6. Methoden zur Untersuchung der Grundsubstanz.

a) Die Grenzscheiden des Kanalsystems. Die gewöhnlichste Methode, die Grenzscheiden darzustellen, ist die Isolation derselben. Bekanntlich ist es R. VIRCHOW[139]) gewesen, welcher zuerst durch Maceration dünner Knochenplättchen (gekochter oder ungekochter) in koncentrirter Salzsäure (4—12 Stunden) und Zerschütteln derselben auf dem Objektträger verästelte, sternförmige Körperchen isolirt hat.

Dasselbe gelang F. HOPPE[56]) durch Kochen des mittels Salzsäure entkalkten Knochens unter erhöhtem Druck (im PAPIN'schen Topf) und FÖRSTER[42])

---

* Vergl. TANDLER, Mikroskop. Injektionen mit kaltflüssiger Gelatine. Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 18, pag. 22, 1901.

mittels Salpetersäure; Knochenschliffe oder -splitter werden auf dem Objektträger direkt in einen Tropfen koncentrirter oder nur schwach verdünnter Salpetersäure gebracht, der man, um das Eintrocknen zu verhindern, etwas Glycerin zusetzt. Nach 24 Stunden kann man durch leichten Druck auf das Deckglas die »Knochenkörperchen« (d. h. die Grenzscheiden der Lakunen und Kanälchen) vollkommen isoliren.

Aehnlicher Methoden bedienten sich zahlreiche spätere Untersucher (vergl. Brösicke [18]) und es ist mittels derselben gelungen, auch das resistentere Häutchen, welches die Havers'schen Kanäle [Kölliker [64]), Neumann [91])] und Spongiosalücken (v. Langer [71]) auskleidet, isolirt darzustellen.

Nach Brösicke [18]) können die Grenzscheiden isolirt werden: am besten durch Salz- oder Salpetersäure, weiter durch kochende Essigsäure, koncentrirte Natronlauge, starke Oxalsäure, verdünnte Schwefelsäure, Kochen in Wasser und künstliche Verdauung. Besonders empfiehlt er seine Osmiummethode verbunden mit Altmann's Oelinjektion (s. d.).

$^1/_2$—1 Ccm. grosse Knochenstückchen kommen aus dem Oelgemisch zur Entkalkung in Salz- oder Salpetersäure (3—10%), werden gewaschen und zuerst auf 24 Stunden in 1%ige Osmiumsäure, darauf ebensolange in gesättigte, wässerige Oxalsäurelösung (1:15) gebracht. So vorbehandelte Stückchen werden in einem Gemisch von Eisessig, Glycerin und Wasser zu gleichen Theilen auf dem Sandbade $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang gekocht. Wenn sich von den Rändern des hineingelegten Stückchens kleine Fetzen loslösen und das Gemisch anfängt sich zu bräunen, nimmt man den Knochen heraus und schüttelt ihn auf einem Objektträger in Wasser aus. Wenn man das Wasser unter dem Deckglase vorsichtig durch Glycerin ersetzt, kann man sich solche isolirte Ausgüsse mit der umhüllenden Grenzscheide auch dauernd aufbewahren.

Als Beispiel einer Vorschrift, durch künstliche Verdauung die Grenzscheiden darzustellen, möge die von de Burgh Birch [19]) gegebene dienen: 1 Ccm. Glycerinextrakt des Hundepankreas (nach v. Wittich's Methode bereitet) wird in 1%iger Lösung von Natrium bicarbonicum auf 20 Ccm. verdünnt. In diese Flüssigkeit kommen Knochenschnitte, welche in 1%iger Chromsäure mit Zusatz von Salpetersäure entkalkt, in Alkohol nachgehärtet, 24 Stunden in Gummilösung eingelegt und mit dem Gefriermikrotom geschnitten worden waren.

Hieher gehört auch das Verfahren, welches Zachariades [148]) zur Isolation von »Zellen mit anastomosirenden Ausläufern« angegeben hat. Der Knochen wird in Pikrinsäure entkalkt, ausgewaschen, in Alkohol übertragen und die Schnitte dann auf dem Objektträger in einer Glycerin-Essigsäuremischung einige Minuten bis zum Kochen erhitzt. Dann werden sie mit Wasser abgewaschen und mit Eosin nachgefärbt, dessen Ueberschuss mit einigen Tropfen Essigsäure entfernt wird. Auch mittels der Kalilaugenmethode von Zachariades (siehe Kap. 4, pag. 663) kann man aus frischem Knochen im Anfange der Einwirkung die Grenzscheiden der Lakunen und Kanälchen isoliren. Später werden sie aber aufgelöst, was bereits Brösike [18]) beobachtet hat.

Alle diese Methoden dienen auch zur Isolation der Zahnbeinscheiden. Kölliker [64]) hat dieselbe zuerst durch Behandlung dünner Schnitte von entkalktem Zahnbein 12—24 Stunden mit Schwefel- und Salzsäure oder einige Stunden mit verdünntem kaustischem Natron oder Kali vorgenommen. Eine zweite Gruppe von Methoden lässt die Grenzscheiden auch in situ, an Schnitten oder Schliffen deutlich hervortreten.

Nach Röse [111]) soll es mit Hilfe der Chromsilbermethode gelingen, an frischen Zahn- und Knochenschliffen alle organische Substanz (Protoplasma und leimgebende Substanz) schwarz zu färben. Schliffe von in Alkohol aufbewahrten Zähnen oder Knochen werden 24 Stunden lang in einer $^1/_2$%igen Lösung von gelbem chromsaurem Kali belassen, dann abgespült in sehr verdünnter Silbersalpeterlösung und auf weitere 24 Stunden in $^3/_4$%ige Silbersalpeterlösung übertragen. Dann polirt man beiderseitig auf einem feinen Arkansasstein und schliesst die Schliffe in harten Kanadabalsam ein. An so behandelten Schliffen treten die Knochenzellen, beziehungsweise Tomes-schen Fasern sammt ihren Scheiden, sowie ihren Ausläufern (die Röse

irrthümlich für modificirte leimgebende Substanz hält*) schwarz gefärbt hervor.

Wendet man diese Methode an jugendlichen Knochen an, die mit GERLACH's Karmin durchgefärbt und nach v. KOCH-WEIL'scher Methode geschliffen worden waren, dann sollen die Zellkörper oder Zahnbeinfasern hell bleiben, die Grenzscheiden und Ausläufer sich dagegen tief schwarz färben.

HÖHL[53a]) erhielt an in 96%igem Alkohol konservirtem Dentin eines jungen Hundes nach Doppelfärbung mit Eosin-Hämatoxylin nach GAGE** eine Rothfärbung des verkalkten Dentins und der Zahnbeinfasern, während sich die NEUMANN'schen Scheiden intensiv blau färbten, was HÖHL auf ihren Kalkgehalt bezieht. In der dentinogenen Zone sind die Scheiden noch nicht nachweisbar.

Wie bereits erwähnt (Kap. 4, pag. 26), färben sich auch die Grenzscheiden der Knochenlakunen an Schnitten in Formol fixirter Knochen mit DELAFIELD's Hämatoxylin stellenweise sehr deutlich.

SPULER[126]) bemerkt gelegentlich, dass sich an Durchschnitten von Knochen menschlicher Embryonen (vom Anfange des 5. Monates) die Wandung der Zellhöhlen und Kanälchen mit Orceïn dunkler färbt. SPULER scheint dies (in Verbindung mit der Widerstandsfähigkeit dieser Wandschichten gegen Säuren und Alkalien) bereits auf das Vorhandensein von Grenzscheiden zu beziehen. Ein solches wird für embryonalen Knochen von BRÖSIKE[18]) bestimmt in Abrede gestellt. Die Färbung der Wandschicht gelingt in embryonalen Knochen auch mittels Kongoroth sehr auffällig und hat eine andere Bedeutung (vergl. Kap. 8).

Zur Färbung der Grenzscheiden empfiehlt weiters SCHMORL[123]) folgende Methode: Dünne Celloidinschnitte von kindlichen Knochen, die in MÜLLERscher Flüssigkeit oder dem ORTH'schen Gemische derselben mit Formol gehärtet und nach v. EBNER entkalkt worden sind, werden 10 Minuten in NICOLLE's Karbolthionin (10 Theile koncentrirter Thioninlösung in 50%igem Alkohol auf 100 Theile 1%igen Karbolwassers) oder besser in alkalischer Thioninlösung (Thionin wie vorstehend 2 Theile, dest. Wasser 16 Theile, 1 bis 2 Tropfen Liqu. Ammon. caust.) 3 Minuten gefärbt, in Wasser abgespült und mit Glasnadeln in koncentrirte wässerige Lösung von Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure für wenige Sekunden übertragen. Auswaschen 5—10 Minuten in Wasser, 3—5 Minuten in Liqu. Ammon. caust. 1 auf 10 Th. Wasser; von da kommen sie direkt in 90%igen Alkohol, den man einmal wechselt. Entwässern, Karbolxylol, Balsam. Bei zu starker Färbung der Knochengrundsubstanz ist eine Differenzirung der Schnitte in Salzsäure-Alkohol (5 Min.) gestattet.

Das Gelingen dieser schönen Methode scheint, nach freundlicher schriftlicher Mittheilung des Autors ganz wesentlich von einer guten und schnellen Fixirung der Knochen in Formol oder Formol-MÜLLER'scher Flüssigkeit abzuhängen. Deshalb empfiehlt er, dünne Scheiben der Knochen bei Brütofentemperatur zu fixiren. Die Methode giebt besonders für das Studium der Entwicklung ausgezeichnete Bilder, von denen wir noch manche Aufklärung erhoffen dürfen. Was die Deutung dieser Bilder anlangt, so kann ich nach eingehendem Studium eigener sowie der Originalpräparate SCHMORL's, für deren liebenswürdige Ueberlassung ich dem Autor auch hier meinen verbindlichsten Dank sage, die Ansicht, dass es sich um eine Färbung der Grenzscheiden handle, nicht theilen. Wohl aber erhielt ich mittels der Pikrinsäure-Thioninmethode die Grenzscheiden scharf differenzirt als farblose Hüllen im tiefgefärbten Knochen. Auch für Zahnbein gab mir die Methode gute Bilder.

COLQUHOUN[25]) erhielt eine Färbung der Kerne frischer Knochen, sowie der Grenzmembranen der Gefässkanäle und Lakunen durch folgendes Verfahren: Lange Röhrenknochen werden vom Periost befreit, die Oeffnungen an der Oberfläche mit Holzstiften verschlossen, die Markhöhle gereinigt und durch einen Kautschukschlauch mit dem unteren Ende eines 12 Fuss

---

* Vergl. dazu SCHAFFER, Bemerkungen zur Histologie des Knochengewebes. Anat. Anz. Bd. 14, 1898, pag. 429.

** Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893, pag. 78.

langen Glasrohres, das an der Wand befestigt ist, verbunden. Dieses Rohr wird mit Färbeflüssigkeit — Pikrokarmin, Eosin, Safranin — und einem antiseptischen Zusatz gefüllt. In dem Masse, als der Knochen von aussen trocknet, saugt er Flüssigkeit ein und nach beiläufig einem Monat ist die gewünschte Färbung erreicht. Die Schliffe werden nach der v. Koch'schen Methode angefertigt; Umrisse der Kanälchen sehr undeutlich.

P. Ziegler[152]) bemerkt, dass an Schnitten mit Osmiumsäure fixirter Knochenstückchen es öfters in geradezu ausgezeichneter Weise gelingt, die Knochenkanälchen zur Ansicht zu bringen. Dies kann sich nur auf ihre Wandungen, d. h. Grenzmembranen beziehen.

Endlich findet man gelegentlich an fossilen Knochen aus dem Diluvium, in denen die organische Substanz erhalten ist, die Grenzscheiden der Lakunen an Schliffen als glänzende, kapselartige Säume hervortreten (J. Schaffer[120]), pag. 375).

b) Darstellung der fibrillären Struktur der Grundsubstanz. v. Ebner[29]) hat zuerst an dünnen, gut polirten Knochenschliffen, die er in Wasser untersuchte, nachgewiesen, dass entsprechende Stellen des Schliffes je nach der Schliffrichtung bald punktirt, bald streifig erscheinen, und dieses Verhalten mit einer fibrillären Struktur des Knochens in Zusammenhang gebracht.

Um dieselbe an Schnitten entkalkten Knochens sichtbar zu machen, verwendete v. Ebner seine Entkalkungsmethode (s. d.) mit nachfolgender Untersuchung der Schnitte in 10%iger Kochsalzlösung.

Um Knochenfibrillen oder Bündelchen derselben zu isoliren, empfiehlt derselbe Autor, von Knochen, die in der angegebenen Weise entkalkt wurden, Schabepräparate herzustellen. Man fährt mit einem bauchigen Skalpelle parallel der Oberfläche des Knochens hinweg und vertheilt die abgeschabte Masse mit Nadeln in einem Tropfen Wasser auf dem Objektträger. Es gelingt auf diese Weise, infolge der dichten Verflechtung der Fibrillenbündel immer nur kurze Faserstücke zur Anschauung zu bringen.

Zur Darstellung der fibrillären Struktur des Zahnbeins mittels dieser Methoden eignen sich besonders Hundezähne. Beim Menschen ist sie nur an jugendlichen Zähnen gut zu sehen; sehr deutlich wird die fibrilläre Streifung durch Glühen und Auskochen der Schliffe (siehe weiter unten). Auch kariöses Zahnbein zeigt mitunter die fibrilläre Struktur ungemein deutlich. Dasselbe ist nach v. Ebner[33]) auch an Schliffen durch die hintere, schmelzfreie Seite von Nagezähnen der Ratten und Mäuse der Fall.

Sehr deutliche Präparate, besonders auch von Querschnitten, an denen man sehr deutlich die Abwechslung im Aussehen der Lamellen erkennen konnte, hat Orth[93]) erhalten, wenn er Schabsel oder Schnitte des mit v. Ebner's Flüssigkeit behandelten Knochens nach dem Auswaschen noch der künstlichen Verdauung unterzog.

Man bereitet sich nach Kühne die Verdauungsflüssigkeit, indem man Rinderpankreas mit Alkoholäther extrahirt, so dass es nach dem Abdunsten des Aethers eine weisse, leicht zerreibliche, trockene Masse bildet. Ein Gewichtstheil derselben wird mit 5 Theilen Salicylsäure von 1‰ 3—4 Stunden bei 40° C. erhalten und dann durch ein leinenes Läppchen gepresst. In dieser Flüssigkeit bleiben die Schabsel oder Schnitte einige Tage im Brütofen bei 37° C., werden dann mit Wasser ausgeschüttelt und in Wasser untersucht.

Eine andere Art, die fibrilläre Struktur darzustellen, beruht auf der Zerstörung der unverkalkten Fibrillen mit nachträglicher Luftfüllung der durch dieselbe freigewordenen feinsten Röhrchen in der verkalkten Kittsubstanz. Zu diesem Zweck veraschte v. Ebner möglichst dünne, polirte Knochenschliffe auf dem Platinbleche. Dabei muss man vorsichtig erwärmen, da sonst der Schliff sofort heruntergeschleudert wird. Ist derselbe wieder vollständig weiss geworden, so ist er sehr brüchig und undurchsichtig. Er wird nun nach der von v. Ebner[31]) modificirten Krukenberg'schen Methode (s. d.) eingeschlossen und lässt an den dünnsten Stellen, »die nicht dicker sind, als etwa die Distanz zweier Knochenkanälchen beträgt«, dicht gedrängte, lufterfüllte Röhrchen erkennen, welche den Fibrillen vollständig entsprechen. Statt des Veraschens auf dem Platinbleche kann man die Schliffe auch kurze Zeit in Alkalien oder 8—12 Stunden im zugeschmolzenen Glasrohre in Wasser bei 120° C. kochen.

Brösicke[18]) unterbricht zu demselben Zwecke das Glühen auf dem Platinbleche in dem Momente, in dem der Schliff nach dem Schwarzwerden wieder kaffebraun wird. Untersucht man ihn dann in Glycerin oder einer anderen Flüssigkeit, so findet man die Fibrillen als braune Punkte oder Streifen in einer schwach gelblichen interfibrillären Substanz deutlich hervortreten.

Sehr überzeugende Präparate betreffs der fibrillären Struktur geben manche fossile Knochen, in welchen an Stelle der zerstörten Fibrillen eine gefärbte Masse getreten ist (vergl. Schaffer[120]).

Endlich liegen Versuche vor, die Fibrillen oder die Kittsubstanz zu färben oder durch Imprägnation deutlicher hervortreten zu lassen.

Brösicke[17, 18]) empfiehlt möglichst kleine, durch Salzsäure (Kochsalzlösung) entkalkte und durch Auswässern entsäuerte Knochenstücke auf 24 Stunden in 1%ige Osmiumsäure, dann auf ebensolange in kalt gesättigte Oxalsäure zu bringen und nach der v. Ebner'schen Schabemethode zu untersuchen. Die Fibrillen erscheinen glänzend, ungefärbt, die Kittsubstanz hell karmoisin- bis dunkelburgunderroth.

Matschinsky[83]) bringt dünne, sorgfältig entfettete und polirte Schliffe aus Wasser in 1%ige Silbersalpeterlösung, dem Lichte ausgesetzt, bis der Schliff eine leicht braune Färbung anzunehmen beginnt. Dann wird er in destillirtem Wasser ausgewaschen. Der Glanz des Schliffes ist nun durch einen feinkörnigen Niederschlag an der Oberfläche verloren gegangen. Er wird daher wieder auf einem feinsten Schleifstein oder Mattglas abgerieben, doch so vorsichtig, dass nicht die ganze gefärbte Schicht entfernt wird. Einschluss in flüssigem Balsam. Die Methode beruht offenbar auf der ungleichen Abschleifbarkeit der quer- und längsgetroffenen Lamellen. Sie giebt, wie die folgende, stellenweise recht gute Bilder, hauptsächlich von der lamellären Struktur. Die Präparate gehen aber bald zugrunde.

Noch besser ist es, die Imprägnation im Dunkeln vorzunehmen (zwei Stunden bei gewöhnlicher Temperatur, $^3/_4$ Stunden bei 36^0 C.). Dann kann das nachfolgende Poliren länger dauern. Die Fasern und Bündel sollen dunkelbraun, die Zwischensubstanz farblos erscheinen. Die Präparate sind vor Licht zu schützen.

In ausgezeichneter Weise tritt die fibrilläre Struktur an embryonalen Knochen hervor, die nach der Chinoleïnblaumethode von Vivante (s. Kap. 4) gefärbt worden sind und in essigsaurem Kali untersucht werden.

Von wesentlicher Bedeutung für das Studium der fibrillären Knochenstruktur ist die Untersuchung im polarisirten Lichte. Man vergl. darüber v. Ebner[28—30]) und Schaffer.[120])

c) Nachweis der Kittsubstanz. Hier kommen die im vorigen Abschnitte besprochenen Methoden in Betracht.

Kitt- und Ansatzlinien treten an mit Delafield's Hämatoxylin gefärbten Schnitten entkalkten, in Formol fixirten Knochens dunkelblau hervor.

Brösicke[17, 18]) giebt an, dass an Schabepräparaten von Knochen, die nach seiner »Osmiummethode« angefertigt wurden, die Fibrillen glänzend, ungefärbt, die Kittsubstanz dagegen hellkarmoisin bis dunkelburgunderroth erscheint. An nicht vollkommen veraschten Schliffen, die man in Glycerin untersucht, sieht Brösicke[18]) die Fibrillen als braune Streifen in einer schwach gelblichen interfibrillären Substanz.

An gewissen fossilen, noch leimhaltigen Knochen kann die Kittsubstanz durch eine besondere Veränderung ihres Lichtbrechungsvermögens stellenweise deutlich hervortreten (vergl. Schaffer[120]), pag. 364 u. f.).

Am einfachsten und sichersten gelingt die Darstellung der Kittsubstanz auf folgende Weise: Gut entfettete Knochenschliffe werden nach der Fuchsin-

methode von ZIMMERMANN oder RUPRECHT (s. d.) behandelt und dann auf einem feinen Schleifstein mit dem Finger bis zur möglichen Grenze der Dünnheit geschliffen. Dann werden sie nach der KRUKENBERG'schen Methode eingeschlossen, jedoch müssen beide Balsamlagen durch Erwärmen nochmals vollkommen flüssig gemacht und der Schliff durch Aufdrücken des Deckglases von dem heissen Balsam vollkommen durchdrungen werden. Kitt- und Ansatzlinien erscheinen dann stark glänzend und ebenso — an den dünnsten Stellen des Schliffes — die interlamelläre und interfascikuläre Kittsubstanz.

d) Darstellung der lamellären Struktur des Knochengewebes und Zahnbeins. Um die Lamellen an Knochenschliffen deutlich hervortreten zu lassen, hat V. EBNER [29]) gut polirte Schliffe mit Terpentinöl oder Damarlack infiltrirt; noch besser, wenn man sie mit altem zähem Kanadabalsam, deu man durch starkes Erwärmen flüssig macht, ganz durchtränkt.

HARTING [50]) legt die Schliffe auf einige Stunden in eine Lösung von Blutlaugensalz, spült sie dann mit Wasser gut ab und befeuchtet sie mit einer Eisenoxydsalzlösung. Der oberflächliche Farbniederschlag tritt am deutlichsten an den Rändern der koncentrischen Lamellen und in den Lakunen hervor.

Besondere Methoden zur Darstellung des lamellären Gefüges hat MATSCHINSKY [81, 82]) angegeben. Ein sehr dünner, glatt polirter Schliff wird für 2—3 Tage in eine gesättigte, wässerige Anilinblaulösung gebracht, rasch in Wasser abgespült und zwischen zwei Blättern Fliesspapier abgetrocknet. Dann wird der Schliff noch auf einer matten Glasplatte, einer Holzplatte oder Glanzpapier nachpolirt. Die streifigen Lamellen erscheinen gefärbt, die punktirten ungefärbt.

Oder: er bringt den Schliff auf 2—5 Minuten in 1%ige Lösung von Silbernitrat, »bis sich an dem Präparate eine milchige Nuance bemerkbar macht«. Abspülen in Wasser, trocknen zwischen zwei Fliesspapierlagen, Einschluss in weichen oder harten Balsam. Die streifigen Lamellen färben sich viel stärker, ebenso die Kittlinien.

Um den lamellären Bau an Schnitten deutlich zu machen, genügt es, den Knochen nach einer der Methoden zu entkalken, welche die fibrilläre Struktur erhalten, und die Schnitte in schwach lichtbrechenden Medien zu untersuchen (Kali aceticum). Färbt man sie mit DELAFIELD's Hämatoxylin-Thonerde, dann sind die Lamellengrenzen auch nach Lackeinschluss deutlich sichtbar.

V. EBNER [29]) empfiehlt zu diesem Zwecke auch kurz andauerndes Kochen des entkalkten Knochens, wonach an Durchschnitten durch denselben neben den Lamellengrenzen auch die Kittlinien und SHARPEY'schen Fasern deutlich hervortreten.

Nach SCHIEFFERDECKER [122]) lassen sich durch langes Maceriren entkalkter Knochenschnitte in Wasser die HAVERS'schen Lamellensysteme mehr oder minder vollständig trennen.

Leicht gelingt die Isolation der Lamellen auch mittels der V. EBNER'schen Schabemethode an Knochen, die mit Erhaltung der fibrillären Struktur entkalkt wurden (vergl. auch Abschn. *e*). Ohne Gewalt lösen sich am macerirten Knochen bei langem Liegen in 5%iger Salpetersäure die äusseren umfassenden Lamellen in grossen Blättern ab.

Sehr deutlich zeigen den Wechsel der Lamellen auch Schnitte, die man nach einer mir von L. MERK mitgetheilten Methode behandelt: nach V. EBNER entkalkte und dann neutralisirte kleine Knochenstückchen kommen auf 24 Stunden in 10%ige Tanninlösung; hernach werden sie gründlich ausgewaschen und in 10%ige Eisenvitriollösung gebracht, wobei keine Wolken entstehen dürfen.

Die Zahnbeinlamellen, welche eine ganz andere Bedeutung besitzen wie die Knochenlamellen, treten an manchen Zahnschliffen schon bei schiefer Beleuchtung deutlich hervor. Bennett* empfiehlt zu ihrer Sichtbarmachung Zahnschliffe oder ganze Zähne monatelang (1 bis 6) mit Glycerin zu behandeln.

e) Darstellung der Sharpey'schen Fasern. Dass an Schnitten von kurze Zeit gekochten, entkalkten Knochen die Sharpey'schen Fasern deutlich sichtbar werden (v. Ebner[29]), wurde bereits erwähnt. An nach Ranvier's Anilinblaumethode (Kap. 5) behandelten Schliffen treten sie als farblose, scharf begrenzte Kreise oder, wenn längsgetroffen, Striche hervor. Zur Isolation derselben empfiehlt Ranvier[103]) dünne, sorgfältig polirte Schliffe von platten Schädelknochen in $^1/_2$—1%iger Salzsäure zu entkalken und zu zerzupfen. Dasselbe gelingt auch mittels der v. Ebner'schen Schabemethode. Wenn man mit einem bauchigen Skalpell kräftig über die äusseren Generallamellen eines entkalkten Röhrenknochens streift, bekommt man oft Lamellen, in welchen zahlreiche Sharpey'sche Fasern wie Nägel in einem Brett stecken.

Zahlreiche Methoden zur Darstellung der Sharpey'schen Fasern an Schliffen und Schnitten hat Kölliker[55, 66]) empfohlen.

So kann man sie an Schliffen deutlich machen durch kurz andauerndes Glühen, Durchtränken mit Terpentinöl und Einschluss in Damarlack.

Schon das Aufhellen von Knochenschliffen mit Terpentinöl (Xylol) allein und Einschluss in Kanadabalsam (Damarfirnis, Stöhr[131]) bringt sie zur Anschauung.

An Schnitten werden sie sichtbar durch Behandlung mit 10—15%iger Kochsalzlösung, Alkohol oder Essigsäure verschiedener Koncentrationen, Oxalsäure, koncentrirter Salzsäure.

Zur Färbung der Sharpey'schen Fasern empfiehlt Kölliker[66]) Safranin, Lithionkarmin, besonders aber Indigokarmin in folgender Anwendung: Schnitte werden mit koncentrirter Essigsäure durchsichtig gemacht und sofort auf kurze Zeit ($^1/_4$—1 Minute) in unverdünnte Lösung von Indigokarmin gebracht, in destillirtem Wasser ausgewaschen und in Glycerin oder in Kanadabalsam (in diesem Falle muss man wegen der Löslichkeit des Farbstoffes die Schnitte wohl trocknen lassen. Anmerk. d. Verf.) aufgehoben. Die Methode ist unsicher; wenn sie gelingt, so erscheinen die Fasern blassrosa bis dunkelroth, die übrige Knochensubstanz blau.

v. Recklinghausen[104]) empfiehlt zur Sichtbarmachung der Sharpey'schen Fasern, Knochenschnitte auf dem Objektträger zu erwärmen, »bis sich Luftblasen bilden« (also in Wasser?) und dann dieselben in angesäuerter Chlormagnesiumlösung zu untersuchen.

Tafani[133]) bediente sich zum Nachweise der Sharpey'schen Fasern, die er alle für unverkalkt hält, folgender Methoden: An Schliffen von lange Zeit macerirten und gut getrockneten Knochen erfüllt er die Sharpey'schen Röhrchen (Kölliker) mit Farbstoff nach der Vorschrift, die Ranvier für die Füllung der Lakunen mit Anilinblau gegeben hat (s. d.), nur bediente er sich des wasserunlöslichen Cyanins (Chinoleïnblau).

Die zweite Methode dient zur Isolation derselben aus frischen Knochen. Kleine Stückchen desselben kommen zur Entkalkung in ein Gemenge von 40 Theilen gesättigter, wässeriger Pikrinsäure und 5 Theilen 1%iger Osmiumsäure. Dann werden von denselben dünne Lamellen abgezogen, die noch mit Alaunkarmin gefärbt und in Essigsäure ausgewaschen werden können.

---

* Transact. Odontol. Soc. Great Britain, 1888, Nov. Nach Hopewell-Smith[55]), pag. 30.

f) Darstellung der elastischen Fasern im Knochen. Hier sind die Methoden zum Nachweise elastischer Fasern überhaupt anzuwenden und kommt zunächst ihre bekannte Widerstandsfähigkeit gegen Säuren und Alkalien in Betracht. Mittels letzterer Reagentien hat H. MÜLLER[88]) auch zuerst ihr Vorkommen im Knochen nachgewiesen.

Es ist zweckmässig, sich frischer Knochen zu bedienen, da durch die Maceration das elastische Gewebe aufgelöst werden kann. v. EBNER[29]) hat die elastischen Fasern ausser durch kurzdauerndes Kochen in Natronlauge oder tagelanges Kochen in Wasser auch durch Färbung sichtbar gemacht. Nach seiner Methode entkalkte Schnitte werden auf 1—2 Tage in eine sehr verdünnte (schwach rosa gefärbte) Fuchsinlösung gebracht, in welcher sich nur die elastischen Fasern elektiv stark roth färben. Leider gelingt die Färbung mit den heutigen Fuchsinen nicht. Doch wirkt Magentaroth ähnlich. (Siehe unten.)

BRÖSICKE[18]) empfiehlt zur Isolation der elastischen Fasern Kochen der Schnitte in einem Gemisch von verdünnter Essigsäure und Glycerin.

KÖLLIKER[76]) kocht die Schnitte mit Essigsäure, Oxalsäure und Salzsäure; zerstört dieselben in der Kälte mit Kali- oder Natronlauge. Endlich hat er sie mit Fuchsin oder Safranin nach FLEMMING's Methode für Kernfärbung gefärbt.

RENAUT[105]) empfiehlt zur Darstellung der elastischen Fasern besonders Vogelknochen, in welchen sie ein typisches und reichliches Vorkommen bilden. Die Knochen werden frisch auf 24 Stunden in Alkohol gehärtet, in Pikrinsäure entkalkt, in Gummi eingebettet und geschnitten. Die Schnitte werden mit Pikrokarmin (RANVIER) gefärbt und in Karminglycerin eingeschlossen. Elastische Fasern ambragelb. Oder man zieht von so entkalkten Knochen (am besten Phalangen) Lamellen mit Pincetten ab und zerzupft sie entweder nach Färbung mit Purpurin (24 Stunden) oder direkt in Wasser oder einem Tropfen Glycerin.

SCHÄFER[118]) färbt Schnitte von entkalkten Knochen in einer verdünnten Lösung von Magentaroth in Glycerinwasser unter dem Deckglas. Reines Glycerin, sowie Alkohol lösen die Farbe wieder auf. Die Färbung gelingt auch in maximal verdünnter Lösung des Farbstoffes (1—2 Tage).

SCHULZ[125]) färbt nach v. EBNER entkalkte und mit Salmiak neutralisirte Schnitte mit Orceïn; entweder nach der Methode von HANSEN*, indem er gleiche Theile von Orceïn 0,1, 95%igem Alkohol 20,0, Wasser 20,0 und Salzsäure 0,1, 95%igem Alkohol 20,0, Wasser 5,0 als Farbflotte benützt, in der zweiten Lösung entfärbt, in destillirtem Wasser auswascht; Alkohol, Origanumöl, Balsam. Oder indem er nach UNNA's** schneller Methode 10 bis 15 Minuten bei Brütofentemperatur färbt in Orceïn, Salzsäure aa. 1,0, Alk. abs. 100,0, mit Alkohol abwäscht, aufhellt und einschliesst.

7. Die Untersuchung der Weichtheile der Knochen und Zähne.

Hier kommt ausser der Herstellung von Schliffen mit Erhaltung der Weichtheile nach der v. KOCH-WEIL'schen Methode die Anfertigung von Schnitten mannigfach fixirter und entkalkter Knochen sowie Zähne in Betracht, wobei die allgemeinen Regeln der histologischen Schnitt- und Färbetechnik zu beachten sind.

Das Knochenmark kann auch als Gewebe für sich entweder fixirt und geschnitten oder wie Blut als Deckglaspräparat behandelt werden.

Im ersten Falle verfährt man so, dass man z. B. einen langen Röhrenknochen von Föten oder jungen Thieren mit Meissel oder Zwickzange — RANVIER[103]) empfiehlt eine starke Messerklinge der Länge nach aufzusetzen

* VIRCH. Arch., Bd. 137, 1894, pag. 142.
** Monatshefte f. prakt. Dermat., Bd. 19, 1894.

und mit dem Hammer auf den Rücken derselben zu schlagen — der Länge nach aufsprengt, mit einer breiten Lanzennadel oder einem feinen Skalpell einen Klumpen Knochenmark herausnimmt und denselben in die Fixirungsflüssigkeit überträgt, in der er rasch erhärtet und seine Form behält, so dass er weiter wie ein anderes Gewebestück behandelt werden kann. ARNOLD[80]) schiebt den Markcylinder, nachdem er die Epiphysenenden abgetragen, mittels eines feinen Glasstabes aus seinem knöchernen Schafte so weit heraus, dass man kleine Stücke des Markes mit der Scheere abschneiden kann.

Im zweiten Falle kann man einmal das Knochenmark als Flüssigkeit frisch in dünner Schicht ohne oder mit einer sogenannten indifferenten Zusatzflüssigkeit unter das Deckglas bringen. Ersteres ist mehr zu empfehlen, da nach MALASSEZ[79]) sowohl das von RANVIER[103]) angewendete Blutserum, als auch $^3/_4$%ige Kochsalzlösung die kernhaltigen rothen Blutkörperchen bald entfärbt. Zweitens kann man das Knochenmark nach EHRLICH's Methode auf dem Deckglase in dünner Schicht ausstreifen und entweder durch Antrocknen oder sofortiges Uebertragen auf eine Fixirungsflüssigkeit fixiren.

Zur Untersuchung des frischen Knochenmarkes empfiehlt NEUMANN[92]), markhaltige, besonders spongiöse Knochen mit dem Schraubstock oder einer Quetschzange auszupressen, einen kleinen Tropfen des hervorquellenden Markes durch ein Kapillarrohr aufzusaugen und auf einen Objektträger zu übertragen, wo es in dünnster Schicht ohne Zusatzflüssigkeit ausgebreitet und sofort mit dem Deckglase bedeckt werden muss. Oder man stösst ein feines Glasröhrchen in den Markcylinder eines eben eröffneten Röhrenknochens und bringt ein Tröpfchen des sofort aufsteigenden Marksaftes auf das Objektglas.

Die Deckglastrockenmethode wird nach H. F. MÜLLER[89]) zweckmässig in folgender Weise gehandhabt: Man präparirt an jüngeren eben getödteten Thieren (Meerschweinchen, Kaninchen) so rasch als möglich die Rippen in der Weise heraus, dass am sternalen Ende ein Stück Knorpel bleibt, das vertebrale Ende durchtrennt und die Rippe dann durch Schaben vollständig von ihren Weichtheilen befreit wird. Drückt man nun mit einer starken Pincette auf das sternale Ende, so tritt am anderen Ende Mark in Form eines ausreichend grossen Tropfens hervor. Nun fasst man ein sorgfältig (wie zur Blutuntersuchung) gereinigtes Deckgläschen zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand (noch besser mit einer breiten Deckglaspincette), so dass es horizontal liegt. Ein zweites Deckgläschen führt man mit einem freien Rande rasch über den Knochenmarkstropfen und zieht es mit der rechten Hand über die Fläche des ersten mit dem benetzten Saum in geneigter Lage so hinüber, dass die beim Aufsetzen in dem von beiden Gläschen gebildeten, spitzen Winkel angesammelte Flüssigkeit in möglichst gleichmässigem Zuge auf dem ersten Deckglase ausgestrichen wird. Dabei ist es gut, das Auspressen des Knochenmarkes von einem Gehilfen vornehmen zu lassen. Man kann auf diese Weise ziemlich gleichmässig dünne Schichten bekommen, jedoch erfordert die Methode Uebung und werden die Zellen immerhin stark durcheinander geschoben. Daher ist es in vielen Fällen vorzuziehen, nach dem Vorschlage von MALASSEZ[79]) so zu verfahren, dass man mit einem frischen Stücke Knochenmark den Objektträger (oder das Deckglas, MUIR[89a]) einfach sanft und vertikal berührt. Man erhält so gleichsam einen Abklatsch einer Schnittfläche des Markes. Wenn JOLLY[57]) in der Mitte solcher Knochenmarksflecken eine zu dicke, abbröckelnde Schichte bekommt, so drückt er wohl das Markstück zu stark auf.

Will man eine Eintrocknung der Elemente vermeiden, so muss man so hergestellte Deckglaspräparate sofort fixiren, indem man nach MALASSEZ

den Objektträger mit der beschickten Fläche nach unten über eine weithalsige Flasche mit starker Osmiumsäure deckt ($^1/_4$—2 Minuten) oder das Deckglas schwimmend auf erwärmte, gesättigte Kochsalzsublimatlösung ($^1/_2$ Stunde, MUIR[89a]) oder FLEMMIG's Gemisch (JOLLY) bringt.

Ueber andere Fixirungsmethoden, sowie über die Färbung sowohl der Schnitt- als Deckglaspräparate siehe die Abhandlung von PAPPENHEIM.[96])

Um isolirte Zellen des fixirten Knochenmarkes zu erhalten, hat ARNOLD folgende Methoden empfohlen: 1. Ein ganz dünner, gefärbter Celloidinschnitt durch das Mark wird durch Nelkenöl auf dem Objektträger vom Celloidin befreit und mit einem (hängenden) Tropfen Kanadabalsam bedeckt. Bei leichtem Druck auf das Deckglas zerfällt der Schnitt und man findet zahlreiche isolirte, sehr gut in ihrer Form und Struktur erhaltene Zellen.[7]) Oder er[8]) bringt möglichst kleine Stückchen auf 6 Stunden in 1%ige Osmiumsäure und zerschüttelt sie dann in EHRLICH's Hämatoxylineosinlösung.*

Zur Darstellung eigenthümlicher Fasernetze im Knochenmark verwendete ENDERLEN[36]) ein zuerst von OPPEL für Leber und Milz angegebenes Verfahren: Härten der Stücke in Alkohol, Uebertragen auf 24 Stunden in 10%ige wässerige Lösung von Kalium chromicum flavum; kurzes Abspülen mit destillirtem Wasser, dem einige Tropfen einer $^3/_4$%igen Silbernitratlösung zugesetzt sind. Darauf 24 Stunden in öfter zu wechselnde $^3/_4$%ige Silbernitratlösung, absoluten Alkohol, Schneiden ohne Einbettung, Toluol, Einschluss in Toluolbalsam ohne Deckglas.

Auch die Pulpa des Zahnes kann man für sich allein den gebräuchlichen Fixirungs-, Schnitt- und Färbemethoden unterwerfen. Bei Hundezähnen gelingt es nach WEIL[144]) leicht, die ganze Pulpa aus ihrer Höhlung zu ziehen, wenn man die Wurzelspitze mit einer Zange abkneipt, wobei dann die Pulpa meist an dieser hängen bleibt. Auch an menschlichen Zähnen gelingt es, die Pulpa isolirt zu erhalten, wenn man die Zähne mit einer starken Zange der Länge nach aufsprengt und die Pulpa mit einem feinen Skalpell von ihrer Wandung ablöst.

Ueber die Ergebnisse verschiedener Fixirungs- und Färbungsmethoden solcher isolirter Pulpen vergl. HÖHL[53a]) und WALKHOFF.[143])

Zur Untersuchung der feineren Zellenstruktur der Zahnpulpa findet RÖSE[109]) unzweifelhaft am brauchbarsten die Holzessigmethode nach MÄHRENTHAL. Fixiren in FLEMMING's Gemisch oder 1%iger Osmiumsäure, Härten in Alkohol, Entkalken in 5—10%iger Salpetersäure, abermals Härten und Uebertragen in nicht gereinigten Holzessig, Einbettung in Paraffin.

Ueber die Darstellung der Blutgefässe der Pulpa vergl. LEPKOWSKI[76]); betreffs der Pulpanerven BOLL[12]), MORGENSTERN[87]) und RÖMER.[107])

8. Methoden zum Studium der Entwicklungsvorgänge an Knochen und Zähnen.

Diese bestehen im wesentlichen in der Anfertigung von Schnitten durch gut fixirte embryonale Knochen und Zahnanlagen verschiedener Entwicklungsstadien und in möglichst scharf differenzirenden Färbungen derselben.

Um die Nachtheile der künstlichen Entkalkung zu umgehen, kann man entweder Schliffe nach der v. KOCH-WEIL'schen Methode anfertigen (vergl. ZAGELMEIER, Kap. 2) oder, nach dem Vorschlage von RETTERER[106]) junges Knochengewebe wählen, noch bevor es verkalkt ist.

Besonders empfiehlt er die perichondrale Knochenkruste der Finger und die Knochenkappe der Endphalangen. Diese Stellen sind noch unverkalkt bei Kaninchenembryonen vom 23.—24. Tage (6—7 Cm. L.), Meerschweinchen von 4—6 Cm. L., Pferdeembryonen von 15—20 Cm. L. und jungen Axolotln am Ende des ersten Jahres bis zur ersten Hälfte des zweiten. Fixirung in gesättigter, wässeriger Sublimatlösung oder ZENKER'scher Flüssigkeit. Zur Färbung empfiehlt er besonders HEIDENHAIN's Eisenhämatoxylinmethode.

* Zeitschr. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886, pag. 150.

Zur Untersuchung bereits verkalkter Knochen sind möglichst kleine Stücke zu wählen und am besten mit einer sauren Fixirungsflüssigkeit, welche gleichzeitig entkalkt, zu behandeln, z. B. FLEMMING's starkem Chromosmiumessigsäuregemisch. Solche Präparate vom embryonalen Scheitelbein geben besonders an Flachschnitten, nach der Methode von VIVANTE[140]) mit Chinoleïnblau gefärbt und in essigsaurem Kali untersucht, vorzügliche Bilder von den Osteoblasten und ihren Beziehungen zur fibrillären Grundsubstanz.

Die hydropisirten Knorpelzellen der Ossifikationszone erscheinen bereits stark verändert, wenn man z. B. Metatarsi eines älteren Katzenembryos als Ganzes, wenn auch von der Muskulatur befreit in die Fixirungsflüssigkeit bringt. Will man diese Zone möglichst gut erhalten, so muss man dieselbe in Form eines Freihandschnittes, den man möglichst rasch nach Tödtung des Thieres anfertigt, in FLEMMING's Gemisch oder Platinchloridsublimat fixiren und dieses dünne Scheibchen dann erst einbetten und weiter zerlegen.

Für grössere Knochen älterer Embryonen ist MÜLLER'sche Flüssigkeit, ORTH's Gemisch derselben mit Formol oder ERLICKI's Flüssigkeit mit 1% Eisessig zu empfehlen, nur verzichtet man dabei auf feinste Zellstrukturen, besonders in der Ossifikationszone.

Für das Studium der Zahnentwicklung ist es zweckmässig, den Kiefer in Stücke zu zerschneiden, welche je eine Zahnanlage enthalten oder letztere herauszupräpariren und für sich zu fixiren.

Die Färbung muss für die endochondralen Verknöcherungsvorgänge in erster Linie darauf hinzielen, Knorpel und Knochengewebe möglichst scharf zu trennen.

Dazu genügen im allgemeinen Doppelfärbungen mit einer basischen Farbe für den Knorpel und einer sauren für den Knochen.

Im Besonderen sei auf meinen Artikel[119]) sowie auf folgende Färbungen hingewiesen.

Hämatoxylinkarmin nach STRELZOFF.[132]) Vorfärben mit Hämatoxylin; nachfärben mit ganz neutralem, karminsaurem Ammoniak, entwässern und eintauchen für einen Augenblick in sehr verdünnte Essigsäure oder schwache Alaunlösung. Präparate in Glycerin einzuschliessen und im Dunkeln aufzubewahren. Kalkloser Knochen roth, kalkhaltiger fast farblos, Knorpel blau. An der Knorpelknochengrenze häufig Mischfarben. Präparate nicht haltbar.

Hämatoxylineosin nach BUSCH.[20]) Am besten an Knochen aus Chromsäure oder ihren Gemischen. Unverkalkter Knochen farblos, verkalkter roth, verkalkter Knorpel blau. Markzellenkörnung und rothe Blutkörperchen leuchtend roth.

Hämatoxylinkongoroth giebt für embryonale Knochen aus MÜLLER'scher Flüssigkeit vorzügliche Differenzirungen. Neugebildeter Knochen ziegelroth, der verkalkte blässer; besonders die schmalen, kapselartigen Säume um eben eingeschlossene Osteoblasten scharf hervortretend. Ebenso die SHARPEY'schen Fasern (Wurzelstock von GEGENBAUR). Am besten Entkalkung nach THOMA, Vorfärbung mit DELAFIELD's Hämatoxylinthonerde, dünne Kongorothlösung (1:300), aus der die Schnitte unmittelbar in 95%igen Alkohol zu übertragen sind, bis das Celloidin farblos ist. Osteoblastenkörper roth, Osteoklasten grau-blau.

Hämatoxylinpikrinsäure nach KUTSCHIN[70]) und KLAATSCH.[60]) Letzterer färbt stark mit Hämatoxylin, überträgt die Schnitte auf 1—2 Minuten in gesättigte Pikrinsäurelösung, eine halbe Minute in Eisessig. Gut auswaschen in Wasser; Balsameinschluss.

Zur Demonstration der Knorpelreste im Knochen empfiehlt KLAATSCH auch starkes Ueberfärben mit Methylviolett, kurzes Nachfärben in der wässerigen Pikrinsäurelösung, gründliches Entfärben in Eisessig. Entwässern, Balsameinschluss.

Indigokarmin nach MERKEL[85]), BAYERL[9]), FLESCH[4]) u. a. Die Methode giebt, wenn sie gelingt, sehr schöne Differenzirungen; das Ergebniss ist jedoch schwankend und scheint wesentlich von der Reinheit der Farbstoffe abzuhängen.

BAYERL verwendet in Chromsalzsäure entkalkte Knochen, bettet in Paraffin ein und färbt 15—20 Minuten in einem Gemisch von

Karmin .	2		Indigcarmin,	
Borax .	8	und	Borax aa. .	8
Wasser	130		Wasser .	130

zu gleichen Theilen. Uebertragen in gesättigte wässerige Oxalsäurelösung, Entwässern, Balsameinschluss. FLESCH bettet in Celloidin ein (das sich mitfärbt), färbt 24 Stunden bei gewöhnlicher, 2 Stunden bei Brütofentemperatur.

Knochen himmelblau, unverkalkte Zone farblos, Osteoblasten dunkelroth, rothe Blutkörperchen grün. Dentin und Schmelz blaugrün in etwas verschiedenem Ton.

Röse[108]) färbt die mit Boraxkarmin durchgefärbten Serien (Paraffin) mit Bleu de Lyon (leicht bläuliche Lösung in absolutem Alkohol) 12—24 Stunden nach. Distinkte Blaufärbung des Knochengewebes, zumal des Dentins und der Bindegewebsfibrillen.

Zur isolirenden Färbung der Knorpelreste im endochondralen Knochen sind die metachromatischen Knorpelfärbungen, besonders die mit Safranin und Thionin von grosser Bedeutung.

Ersteres wurde zu diesem Zwecke zuerst von Bouma[15]) und mir[119]) verwendet. Bouma färbt die mit $^1/_2$%iger Chromsäure entkalkten und gut ausgewaschenen Schnitte in einer Safraninlösung von 1:2000 einige Minuten bis 24 Stunden; dann werden die Schnitte in mit Essigsäure angesäuertem Wasser ausgewaschen und in Glycerin eingeschlossen. Knorpel gelbbraun, Knochen roth. Die Färbung verblasst bald.

Ich färbe jetzt die Schnitte 24 Stunden in einer ad maximum verdünnten Lösung von Safranin oder Thionin (1 Tropfen der 1%igen wässerigen Lösung auf 20 Ccm. Wasser). Im ersteren Falle tritt eine intensive Gelbfärbung, im letzteren eine Heliotropfärbung der verkalkten Knorpelgrundsubstanzreste ein, welche die geringsten Spuren derselben im Knochen erkennen lässt. Leider sind die Färbungen nicht haltbar und verblassen in Glycerinwasser nach Tagen; Alkohol zerstört sie sofort. Die Safraninfärbung hält jedoch, wenn mit Pikrinsublimat fixirte Knorpel verwendet wurden. An Schnitten, die man aus Wasser am Objektträger antrocknen lässt und dann mit Benzol aufhellt und in Balsam einschliesst, bleiben die Färbungen auch erhalten.

Vorzügliche Bilder für das Studium der Entwicklung geben embryonale Knochen, welche nach Schmorl's Molybdän- oder Wolframphosphorsäuremethode gefärbt und mit Eosin nachgefärbt wurden. An solchen Präparaten kann man besonders die wenig gekannten Vorgänge bei der Entwicklung der Knochenkanälchen studiren.

9. Methoden zur Untersuchung der Wachsthumserscheinungen im Knochen.

Die älteste, histologisch verwerthbare Methode dieser Art ist die der Krappfütterung.

Wenn man Thieren (Hühnern, Tauben, Kaninchen) längere Zeit eine Nahrung verabreicht, welcher die gepulverte Wurzel von Rubia Tinctorum beigemengt ist, so nehmen jene Partien der Knochensubstanz, welche während der Krappfütterung gebildet werden, die rothe Farbe an und diese schwindet erst wieder mit der Resorption dieses rothgefärbten Knochengewebes. Tödtet man die Thiere nun verschieden lange Zeit nach der Krappfütterung, so kann man an den Schliffen der Knochen den Gang von Anbildung und Abbau der Knochensubstanz verfolgen.

Aber auch durch gewisse Färbungen von Schliffen oder Schnitten treten auffallende Unterschiede je nach dem Alter einzelner, kleinster Knochenpartien hervor.

v. Ebner[29]) hat bereits beobachtet, dass bei Färbung entkalkter Knochenschnitte jugendlicher Individuen mit sehr verdünnter, wässeriger Fuchsinlösung neugebildete Lamellensysteme genau bis zur Kittlinie gleichmässig lebhaft rothgefärbt waren, während die übrige, ältere Knochensubstanz ungefärbt blieb.

Dasselbe hat später Pommer[93]) bei Anwendung verschiedener Anilinfarben beobachtet.

Um an kalkhaltigen Schliffen die neuangelagerte Knochensubstanz durch Färbung hervorzuheben, hat Matschinsky[81, 82]) folgende Methode angegeben: Die entfetteten Schliffe von macerirten oder frischen Knochen werden aus Wasser direkt in die Farbstofflösung übertragen. Am besten erwiesen sich[82]) gesättigte wässerige Lösung von Safranin und die Ziehl-Neelsen'sche Farbmischung (Fuchsin 1,0, Alkohol 10,0, koncentrirte Karbolsäure 5,0, dest. Wasser 100,0).

Letztere besonders auch zur gleichzeitigen Darstellung der Knochenkanälchen. Schliffe aus frischen Knochen von Kindern bis zum ersten Lebensjahre darf man nicht über 24 Stunden, solche von Kindern bis zu 5 Jahren 48 Stunden. Schliffe von Knochen Erwachsener 3—7 Tage in der Farblösung weilen lassen. Schliffe von macerirten Knochen färben sich rascher; ebenso beschleunigt Brütofentemperatur die Färbung. Kleinere, macerirte Knochen können sogar auf 4—5 Tage als Ganzes in die Farb-

lösung kommen und nachträglich zu Schliffen verarbeitet werden. Die gefärbten Schliffe lässt man trocknen und schleift sie dann (in Wasser oder Alkohol) weiter auf grobem Schleifstein, Naschdackpapier, um sie schliesslich zu poliren und in Luft oder harten Kanadabalsam einzuschliessen.

Am geeignetsten fand ich das Dünnschleifen auf feinem Schleifstein mit Xylol befeuchtet.

Sehr scharf treten die neuapponirten, noch nicht verkalkten Knochenpartien auch an Schnitten hervor, welche nach der Thioninpikrinsäuremethode von SCHMORL hergestellt worden sind. Während nämlich die Kanälchen und Lakunen im verkalkten Knochen scharf gefärbt erscheinen, bleiben sie im unverkalkten, der selbst auch schwächer gelb gefärbt erscheint, farblos. Derselbe Autor empfiehlt neuestens [124]) (pag. 186) zur scharfen Differenzirung der verkalkten und unverkalkten Knochenpartien in MÜLLER's Flüssigkeit schneidbar gewordene, unvollständig entkalkte Knochenschnitte (nach Celloidineinbettung) $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in einer 2—5 $^0/_0$igen Silbersalpeterlösung grellem Sonnenlicht auszusetzen, dann in destillirtem Wasser gut auszuwaschen und zur Entfernung des überschüssigen Silbers in 10 $^0/_0$ige Lösung von Natrium subsulfurosum auf 1—2 Minuten zu übertragen. Gut auswaschen und färben mit Hämatoxylineosin. Alle verkalkten Partien tief schwarz, verkalkter Knochen roth.

Litteratur: [1]) ALTMANN (Centr. med. Wiss., 1878), derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), [2]) ANDEER (Centr. med. Wiss., 1884. Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 1, pag. 350), [3]) derselbe (Compt. rend., Bd. 126, 1898), [4]) APOLANT (VIRCH. Arch., Bd. 121, 1893), [5]) ARNDT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 18, 1901), [6]) J. ARNOLD (VIRCH. Arch., Bd. 71, 1887), [7]) derselbe (VIRCH. Arch., Bd. 140, 1895), [8]) derselbe (VIRCH. Arch., Bd. 144, 1896), [9]) BAYERL (Arch. mikr. Anat., Bd. 23, 1884), [10]) BEHRENS, KOSSEL und SCHIEFFERDECKER (Das Mikroskop), [11]) BÖHM-OPPEL (Taschenbuch, 4. Aufl.), [12]) BOLL (Arch. mikr. Anat., Bd. 4, 1868), [13]) BONNET (Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung thierischer Gewebe etc., München 1884), [14]) BOUIN (Bibl. Anat., Jahrg. 4, 1896), [15]) BOUMA (Centr. med. Wiss., 1883), [16]) derselbe (Onderzoek. gedaan in het physiol. Labor. d. Univ. te Leiden, 6. T., 1884), [17]) BROESIKE (Centr. med. Wiss., 1878), [18]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 21, 1882), [19]) DE BURGH BIRCH (Centr. med. Wiss., 1879), [20]) BUSCH (Verh. physiol. Ges. Berlin, Nr. 14; Deutsch. med. Woch. 1877), [21]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1879), [22]) CHEVASSU (Arch. de Physiol., 1881), [23]) CHIARUGI (Boll. Soc. cult. sc. med. Siena, 1886, Jahrg. 4), [24]) J. CHOQUET (Traité technique des préparations microscopiques à l'usage du Dentiste, Paris 1895), [25]) CHRISTENSEN (Dental Cosmos, Bd. 36, 1894), [26]) COLQHOUN (Journ. of Anat. Physiol., Bd. 34, 1899), [27]) CSOKOR (Verh. Anat. Ges., Wien 1892), [28]) v. EBNER (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 70, 1874), [29]) derselbe (ebendort, Bd. 72, 1875), [30]) derselbe (ebendort, Bd. 75, 1877), [31]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 29, 1887), [32]) derselbe (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 99, 1890), [33]) derselbe (Histologie der Zähne mit Einschluss der Histogenese. SCHEFF's »Handb. d. Zahnheilkunde«, Wien 1890, pag. 225 u. f.), [34]) EHRENBAUM (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [35]) ENDERLEN (Anat. Anz., Bd. 6, 1891), [36]) EWALD (Zeit. Biol., Bd. 34, 1896), [37]) FERRERI (Boll. R. Acc. Med. Roma, Jahrg. 18, 1892), [38]) FISCHÖDER (Arch. klin. Chirurg., Bd. 58, 1899), [39]) FLEMMING (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 3, 1886), [40]) FLESCH (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1878), [41]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [42]) FÖRSTER (VIRCH. Arch., Bd. 18, pag. 170), [43]) FOL (Lehrbuch), [44]) FREY (Das Mikroskop. 8. Aufl.), [45]) S. H. GAGE (Proc. Amer. Soc. Micr., Bd. 14, 1892), [46]) GEBHARDT (Arch. Entwickl., Bd. 10, 1900), [47]) J. GERLACH (Handbuch der allgem. und spec. Gewebelehre, Mainz 1848), [48]) derselbe (ebendort, 2. Aufl., Mainz 1854, pag. 164), [49]) J. HART (Dental Cosmos, Bd. 33, 1891), [50]) HARTING (Das Mikroskop, 2. Aufl. in 3 Theilen, Braunschweig 1866), [51]) HAUG (Centr. allg. Path., Bd. 2, 1891), [52]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891), [53]) HEITZMANN (Wien. med. Jahrb., 1872), [53a]) HÖHL (Arch. Anat., 1896), [54]) v. HÖHNEL (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884), [55]) HOPEWELL-SMITH A. (Dental Microscopy, 2. Aufl., London 1899), [56]) HOPPE (VIRCH. Arch., Bd. 5, 1853), [57]) M. J. JOLLY (Arch. d'Anat. micr., Bd. 3, 1900), [58]) JOSEPH (Arch. mikr. Anat., Bd. 6, 1870), [59]) v. KAHLDEN (Technik der histologischen Untersuchung patholog.-anatom. Präparate, 6. Aufl., Jena 1900), [60]) KLAATSCH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 4, 1887), [61]) KLEBS (Centr. med. Wiss., 1868), [62]) v. KOCH (Anatomie der Orgelkoralle, Jena 1874), [63]) derselbe (Zool. Anz., Bd. 1, 1878), [64]) KÖLLIKER (Mikroskopische Anatomie, Leipzig 1850 u. 1852), [65]) derselbe (Würzburger nat. Zeit., Bd. 1, 1860), [66]) derselbe (Zeit. wiss. Zool., Bd. 44, 1886), [67]) derselbe (Handb. der Gewebelehre, 6. Aufl., Leipzig 1889), [68]) KRAUSE (Allgem. u. mikr. Anat., Hannover 1867), [69]) KRUKENBERG (Arch. Anat., 1849), [70]) KUTSCHIN (Unters. Inst. Physiol. Graz, 1870), [71]) v. LANGER (Denk. Akad. Wiss. Wien, Bd. 36, 1875), [72]) V. A. LATHAM (Intern. Journ. Microsc., London, S. III, F. II, pag. 241), [73]) M. LAWDOWSKY (Med. Bote, 1874 [Russ.], Ref. in HOFMANN-SCHWALBE's Jhber., Bd. 3, 1875), [74]) LEE und MAYER (Grundzüge), [75]) LEP-

kowski (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), [76]) derselbe (Anat. Hefte, Bd. 8, 1897), [77]) Leydig (Lehrbuch der Histologie, Frankfurt 1857), [78]) derselbe (Zelle und Gewebe, Bonn 1885), [79]) Malassez (Arch. de physiol., Jahrg. 14, 1882), [80]) Martinotti (Arch. ital. Biol., Bd. 11, 1889), [81]) Matschinsky (Anat. Anz., Bd. 5, 1890), [82]) derselbe (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892), [83]) derselbe (ebenda, Bd. 46, 1895), [84]) P. Mayer (Zool. Anz., Jahrg. 4, 1881), [85]) Merkel (Unters. anat. Inst., Rostock 1874), [86]) Morgenstern (Deutsch. Mon. Zahnheilk., Jahrg. 3, 1885), [87]) derselbe (ebendort, Jahrg. 14, 1896), [88]) H. Müller (Würzburg. nat. Zeit., 1860), [89]) H. F. Müller (Sitz. Ak. Wiss. Wien, Bd. 98, 1889), [89a]) Muir (Journ. of Anat. Physiol., Bd. 26, 1892), [90]) Nealey (Amer. Month. Micr. Journ., Bd. 5, 1884, Ref. im Journ. R. Micr. Soc. London, 1885), [91]) Neumann (Beiträge zur Kenntniss des normalen Zahnbein- und Knochengewebes, Leipzig 1863), [92]) derselbe (Arch. Heilk., Bd. 10, 1868), [93]) Orth (Cursus der normalen Histologie, 5. Aufl., Berlin 1888), [94]) derselbe (Berl. med. Woch., Jahrg. 33, 1896), [95]) Pansini (Giorn. Assoc. Nat. Med. Napoli, Jahrg. 2, 1891), [96]) Pappenheim (Virch. Arch., Bd. 157, 1899), [97]) Partsch (Verh. deutsch. Naturf., Wien 1894), [98]) Pommer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), [99]) Pritchard (Quart. Journ. micr. sc., 1872), [100]) Ranvier (Arch. de physiol., Bd. 1, 1868), [101]) derselbe (ebendort, Bd. 6, 1874), [102]) derselbe (ebendort, Bd. 7, 1875), [103]) derselbe (Traité technique d'histologie, 2. Edit., Paris 1889), [104]) v. Recklinghausen (Festschr. Virchow, 1891), [105]) Renaut (Arch. de physiol., 1875), [106]) Retterer (C. R. Soc. Biol., X, Bd. 5, 1898), [107]) Römer (Zahnhistologische Studie, Freiburg i. B., 1899), [108]) Röse (Arch. mikr. Anat., Bd. 38, 1891), [109]) derselbe (Deutsch. Mon. Zahnheilk., Jahrg. 10, 1892), [110]) derselbe (Anat. Anz., Bd. 7, 1892), [111]) derselbe (ebendort, Bd. 14, 1897), [112]) Rollett (Vom Knochengewebe. In Stricker's Handbuch der Gewebelehre, Leipzig 1871), [113]) E. Rousseau (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 14, 1897), [114]) derselbe (Bull. Soc. Belge Micr., Bd. 23, 1898), [115]) derselbe (Ann. Soc. Belge Micr., Bd. 24, 1899), [116]) Rudas (Mitt. a. d. Inst. f. Zool. u. vergl. Anat. des o. ö. Univ.-Prof. Dr. St. Apáthy. — Odontoskop. 3. Evfol. Füzet 3/4, pag. 92 Aus dem Ungar. v. E. Néry, 1894), [117]) Ruprecht (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896), [118]) Schäfer (Quart. Journ. micr. sc. 1878), [119]) J. Schaffer (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [120]) derselbe (Sitz. Akad. Wiss. Wien. Bd. 98, 1889), [121]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [122]) Schiefferdecker und Kossel (Gewebelehre, Braunschweig 1891), [123]) Schmorl (Centr. allg. Pathol., Bd. 10, 1899), [124]) derselbe (Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden, 2. Aufl., Leipzig 1901), [125]) K. Schultz (Das elastische Gewebe des Periosts und der Knochen. Diss. Giessen 1895 und Anat. Hefte, Bd. 6, 1896), [126]) Spuler (Anat. Anz., Bd. 14, 1898), [127]) P. W. Squire (Methods and formulae used in the preparation of animal and vegetable tissues etc., London 1892), [128]) Stein (Anat. Anz., Bd 17, 1900), [129]) P. Stephan (Arch. d'Anat. micr., Bd. 2, 1898), [130]) derselbe (Bull. sc. France Belg., Bd. 34, 1900), [131]) Ph. Stöhr (Lehrbuch der Histologie, 9. Aufl., Jena 1901), [132]) Strelzoff (Unters. path Inst. Zürich, 1873), [133]) Tafani (Arch. ital. Biol., Bd. 8, 1876), [134]) Thoma (Virch. Arch., Bd. 104, 1886), [134a]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891). [135]) Tirelli (Atti R. Accad. Lincei, Roma, Rendiconti, Bd. 6, 1890), [136]) W. B. Tolputt (Journ. micr. nat. sc. London, III. Bd. 5, 1895). [137]) J. Tomes (Philosoph. Transact., Bd. 146, 1856), [137a]) Underwood. [138]) Van der Stricht (Arch. Biol., Bd. 9, 1889), [139]) R. Virchow (Verh. phys. med. Ges. Würzburg, Bd. 1, 1850), [140]) Vivante (Int. Mon. Anat. Phys., Bd. 9, 1892), [141]) Volkmann (Arch. klin. Chir., Bd. 4, 1863), [142]) Waldeyer (in Stricker's Handbuch der Lehre von den Geweben, Bd. 2, 1872), [143]) O. Walckhoff (Die normale Histologie menschlicher Zähne einschliesslich der mikroskopischen Technik. Leipzig, A. Felix, 1901), [144]) Weil (Zur Histologie der Zahnpulpa. Habil.-Schrift. München u. Deutsch. Mon. Zahnheilk., 5. u. 6. Jahrg., 1887 und 1888). [145]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 5, 1888), [146]) derselbe (Oest.-ung. Viertelj. f. Zahnheilk., Bd. 7, 1891), [147]) Withe (Journ. R. Micr. Soc., 1891), [148]) Zachariades (C. R. Soc. Biol., 1889), [149]) derselbe (ebendort, 1890), [150]) derselbe (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 10, 1893), [151]) Zagelmeier (Ueber die Anlage des Extremitätenskelettes bei Säugethieren und die Bildung von Knochensubstanz. Inaug.-Diss. Erlangen 1891), [152]) P. Ziegler (Festschr. f. Kupffer), [153]) Zimmermann (Verh. Anat. Ges., Berlin 1889).

Schaffer, Wien.

Knochenmark siehe Knochen und Zähne, Untersuchung derselben. Ueber Ausstrichpräparate des Knochenmarks vergl. auch den Artikel Lymphatische Organe, Untersuchung derselben im Ausstrichpräparat.

Knop'sche Nährlösung siehe Algen, Kultur derselben.

Knorpel. Zur Färbung der Grundsubstanz des hyalinen Knorpels hat Mörner Tropäolin 000, Indigoextrakt (von Gehe & Co.), Methylviolett, Anilinroth und Berlinerblau empfohlen. Die Knorpelschnitte werden mit dem Rasirmesser frisch hergestellt. Von Tropäolin benutzt er eine 2—3%ige wässerige Lösung und färbt 1/2—1 Stunde, dann Auswaschen in Wasser (Balkennetz ausschliesslich orange gefärbt). Indigoextrakt liefert in 4—5%iger wässeriger Lösung in einigen Minuten Blaufärbung des Balkennetzes. Methyl-

violett wird in 0,15%iger wässeriger Lösung verwandt, Färbung ½—2 Minuten, abspülen in Wasser und differenziren in 10%iger Essigsäure (Balkennetz ungefärbt, Chondrinballen blau). Anilinroth liefert in eben derselben Anwendung rothe Chondrinballen. Bringt man die Schnitte zuerst in schwache Eisenchloridlösung und nach sorgfältigem Auswaschen in Wasser in eine sehr verdünnte Ferrocyankaliumlösung, so werden die Chondrinballen durch ausgefälltes Berlinerblau gefärbt. Man kann auch Doppelfärbungen erhalten, wenn man die frischen Knorpelschnitte zunächst in der oben angegebenen Weise in Tropaeolin färbt, dann einige Sekunden in die Methylviolettlösung bringt, einige Minuten mit 10%iger Essigsäure differenzirt, rasch durch Alkohol in Nelkenöl und Balsam bringt (Balkennetz gelb, Chondrinballen blau). Aehnlich kann man die Indigofärbung mit Anilinroth kombiniren. Wolters hat die Untersuchungen von Mörner nachgeprüft und gefunden, dass die Indigofärbung immer fehlschlägt. Dagegen leistet die Tropaeolin-Methylviolettdoppelfärbung vorzügliche Dienste. Die Schnitte kommen für ½ Stunde in 1%ige wässerige Lösung von Tropaeolin 000 Nr. 2 (von Schuchardt in Görlitz), werden 3 Minuten in Wasser ausgewaschen und 1—2 Minuten in einer 0,15%igen wässerigen Methylviolettlösung gefärbt, einige Minuten in 10%iger Essigsäure entfärbt, in absolutem Alkohol entwässert und durch Oel in Balsam gebracht. Zu den Versuchen eignen sich vor allem die Kehlkopf- und Rippenknorpel des erwachsenen Rindes, die Gelenkknorpel geben die Reaktion nicht. Bei jungen Thieren tritt die Reaktion ebenfalls nicht ein, da hier, nach Mörner, Chondrin- und Albuminoidsubstanz noch nicht getrennt sind. Ganz ebenso wie die Thierknorpel verhalten sich auch die menschlichen Knorpel.

Die fibrilläre Struktur der Knorpelgrundsubstanz, respektive die Fibrillen in der Knorpelgrundsubstanz (von Donders entdeckt) lassen sich nach Spronck am besten demonstriren am Femurköpfchen vom Frosch. Dasselbe wird in absolutem Alkohol mit 1 bis 5% Salpetersäure entkalkt, in reinem Alkohol ausgewaschen und mit dem Rasirmesser in Schnitte zerlegt, die in Alkohol untersucht werden. Noch besser treten die Fibrillen hervor, wenn man die so hergestellten Schnitte in folgende Lösung für 6—12 Stunden einlegt: 2%ige wässerige Chromsäure 5 Ccm., Glycerin 5 Ccm., absoluter Alkohol 30 Ccm. Die Präparate können monatelang in verdünntem Glycerin aufbewahrt werden. Da die Fibrillen ausserordentlich quellungsfähig sind, so verschwinden sie bei Zusatz irgend eines quellenden Reagens. Tillmanns macerirt zur Darstellung der Fibrillen die Knorpelschnitte ¼ Stunde oder länger mit Kalk- oder Barytwasser oder setzt sie einen oder mehrere Tage der verdauenden Wirkung einer neutralen Trypsinlösung aus, danach mehrtägiges Einlegen in 10%ige Kochsalzlösung. Auch mehrtägiges Einlegen in eine mittelstarke, wässerige, täglich mehrmals zu wechselnde Lösung von Kaliumpermanganat lässt die Fibrillen gut hervortreten.

Zur Darstellung der viel diskutirten Saftbahnen der Knorpelgrundsubstanz sind die verschiedensten Verfahren eingeschlagen worden. Eine wichtige Rolle spielt hier die von Spina zuerst eingeführte Alkoholbehandlung des Knorpels. Das Femurköpfchen des Frosches oder ein beliebiger anderer Gelenkknorpel, sehr gut eignet sich die Patella des Neugeborenen, wird 3—4 Tage in absoluten Alkohol eingelegt, mit dem Rasirmesser in Schnitte zerlegt und die letzteren in Alkohol untersucht. Man sieht dann von den Knorpelzellen »wie die Speichen eines Rades« (Spina) zahlreiche Fortsätze ausgehen. Budge erhielt ähnliche Bilder durch die Behandlung des Knorpels mit Aether (10 Minuten mit Aether behandeln und in Kollodium einschliessen), Wolters fixirt in Alkohol, färbt 24 Stunden in stark verdünntem Delafield'schen Hämatoxylin und dann 10 Minuten in koncentrirter alkoholischer Pikrinsäure. Man hat auch in verschiedener Weise

durch Injektion dieses Saftkanalsystem zu füllen versucht, so injicirten Budge, Reitz, Heitzmann und andere Berlinerblau, Asphalt, Zinnober und ähnliche Massen, Arnold und Nycamp erhielten positive Resultate mittels indigschwefelsauren Natrons. Von anderer Seite (Cohnheim, Ponfick, Hoffmann) wird auf das bestimmteste behauptet, dass man durch Injektion Farbstoff niemals in die Knorpelkapseln bringen kann.

Auch Versilberung und Vergoldung hat man zum Studium des Knorpels herangezogen und einzelne Beobachter wollen damit Ausläufer an den Knorpelzellen nachgewiesen haben. Pansini fixirt den Knorpel mit Müller oder Sublimat, überträgt nach gründlichem Auswaschen für zwei Tage in $^1/_{10}$%ige Lösung von Goldchlorid oder Palladiumchlorür in reichlicher Menge, dann für 24 Stunden in eine geringe Menge von 1%iger Jodkaliumlösung oder 1—2 Stunden in eine 4%ige Lösung von Jodnatrium, dann Entwässern und Einbetten.

Zur Färbung der Knorpelgrundsubstanz eignen sich im allgemeinen alle basischen Anilinfarbstoffe, vor allem Methylgrün, Dahlia, Thionin, Methylviolett etc., manche derselben färben die Grundsubstanz metachromatisch, bedingt durch die Anwesenheit von Chondromukoid.

Nach Moll färbt Orceïn nach der Unna-Tänzer'schen Methode beim embryonalen Knorpel die Grundsubstanz intensiv blau, die Zellen schwach blau und die Kerne roth; beim erwachsenen Knorpel färbt es dagegen die Grundsubstanz roth, die Zellen intensiv blau.

Für die Darstellung der elastischen Fasernetze im elastischen Knorpel eignen sich die meisten der im Artikel Elastin beschriebenen Methoden, vor allem aber die Weigert'sche Methode mit Nachfärbung in Pikrinsäure-Fuchsin. Sehr feine elastische Fasern finden sich in der Epiglottis, gröbere Fasern in den Ohrknorpeln.

Zur Untersuchung des Bindegewebsknorpels wähle man die Zwischenwirbelscheiben oder am besten den bekannten Knorpel, welcher in der Achillessehne des Frosches liegt, da, wo die erstere über das Tarso-cruralgelenk hinweggleitet und in die Aponeurosis plantaris übergeht. Die besten Präparate geben Längsschnitte in der Richtung der Sehnenfasern. Fixation in Sublimatessigsäure. Einbettung in Celloidin.

Litteratur: Mörner (Skand. Arch. Phys., Bd. 1, 1889), Wolters (Arch. mikr. Anat., Bd. 37, 1891), Donders (Holländ. Beitr., 1848), Spronck (Anat. Anz., Bd. 2, 1887). Tillmanns (Arch. mikr. Anat., Bd. 10, 1874), derselbe (Arch. Anat., 1877), Spina (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 80, 1879), derselbe (Wien. med Jahrb., 1886), Budge (Arch. mikr. Anat., Bd. 16, 1879), Reitz und Stricker (Sitz. Akad. Wiss. Wien, Bd. 55, 1888), Heitzmann (Wien. med. Jahrb., 1872), Arnold (Virch. Arch., Bd. 73, 1878), van der Stricht (Arch. Biol., Bd. 7, 1886), Nykamp (Arch. mikr. Anat., Bd. 14, 1877), Cohnheim (Untersuchungen über die embolischen Processe, Berlin 1872), Hoffmann und Langerhans (Virch. Arch., Bd. 48), Ponfick (ebenda), Pansini (Giorn. Assoz. Napol. Med. Nat., Bd. 2, 1891), Moll (Centr. Phys., Bd. 13, 1899).

Kobaltchlorür, $Co\,Cl_2$, blaue Blättchen, welche sich an der Luft bald roth färben. In Wasser und Alkohol leicht löslich. Die rothe Lösung wird beim Erhitzen blau, beim Erkalten wieder roth.

In der Mikrotechnik ist das Kobaltchlorür von Pianese in 10%iger wässeriger Lösung mit Zusatz von 25% 2%iger Osmiumsäure und einer Spur Ameisensäure zur Fixation von Koccidienleber benutzt worden. Ausserdem hat man das Kobaltchlorür und auch andere Kobaltsalze zur Beizung von Hämatoxylin versucht.

Litteratur: Pianese (Arch. de Parasit. Paris, Bd. 2, 1899).

Kobaltprobe dient (zumal in der Pflanzenphysiologie) zur leichten Sichtbarmachung von Transpirationsvorgängen. Fliesspapier wird mit einer etwa 5%igen Kobaltchlorürlösung getränkt, getrocknet und im Exsiccator

aufbewahrt. Ganz trocken ist es hellblau und wird durch die geringste Spur von Feuchtigkeit rosa gefärbt.

Litteratur: Stahl (Bot. Zeit. 1894). *Magnus*, Berlin.

Kochsalz siehe Chlornatrium.

Königswasser, beim Mischen von 1 Theil Salpetersäure und 3 Theilen Salzsäure entsteht vor allem freies Chlor und daneben auch Stickoxydverbindungen des letzteren

Man hat dieses freie Chlor benutzt in der Mikrotechnik zum Entpigmentiren, indem man die Präparate in ein sehr verdünntes Gemisch von Salz- und Salpetersäure einlegte (Salz- und Salpetersäure aa. 3,0, Wasser 100) und erwärmte.

Kohlenhydrate in Pflanzenzellen siehe Glykogen, Inulin und Zucker in Pflanzenzellen.

Kohlensäure, Kohlensäureanhydrid, CO_2, farbloses Gas vom specifischen Gewicht 1,524; bei 0° und 32 Atmosphären Druck verdichtet es sich zu einer farblosen Flüssigkeit von 0,941 spec. Gew. Diese flüssige Kohlensäure erzeugt beim Verdunsten eine Kälte von — 79° und erstarrt dabei theilweise zu einer schneeartigen Masse. Wasser nimmt bei 15° ungefähr ein Volum Kohlensäure auf, die Aufnahmefähigkeit steigert sich mit Zunahme des Druckes und Sinken der Temperatur. Die wässerige Lösung reagirt auf Lackmus schwach sauer.

Die Eigenschaft der flüssigen Kohlensäure, beim Verdunsten hohe Kältegrade zu erzeugen, wird auch in der Mikrotechnik in neuerer Zeit vielfach benutzt bei der Anfertigung von Gefrierschnitten. (Näheres siehe Gefriermethoden.)

Auf die narkotisirende Wirkung der Kohlensäure hat zuerst Fol aufmerksam gemacht. In letzter Zeit hat v. Uexküll ausgedehntere Versuche in dieser Hinsicht angestellt, er sättigte Seewasser durch Durchleiten mit Kohlensäureanhydrid und fand, dass bei Seeigeln schon nach 2 Minuten die Reflexe schwanden, ähnlich verhielten sich kleine Knochenfische, Krabben brauchten viel längere Zeit und Muscheln wurden gar nicht afficirt. Nach Fol eignet es sich für die meisten Echinodermen und Cölenteraten, nach Lee auch für Anneliden und Hirudineen. Der letztere giesst einfach eine Flasche Sodawasser in das die Thiere enthaltende Wasser.

Litteratur: Fol (Zool. Anz., Bd. 5, 1882), v. Uexküll (Mit. Zool. St. Neapel, Bd. 12, 1896), Lee (Lee & Mayer, Grundzüge).

Kohlhernie (Plasmodiophoren) siehe Myxomyceten.

Kollacin. Kollacin ist eine Substanz, welche einen strukturellen Zusammenhang mit präexistenten Kollagenfasern, tinktoriell aber die Basophilie des Elacins aufweist.

Das Kollacin bildet sich nach längerem Bestande in kollastinreicher Umgebung (s. Artikel: Kollastin), also vorzugsweise bei verwitterter oder myxödematöser degenerirter Gesichtshaut älterer Leute im oberen Theile der Cutis. Daselbst bildet das Kollacin unförmliche Klumpen oder Krümel, die sich durch ihre Tingibilität mit basischen Farben auszeichnen, geradeso wie die bei denselben Affektionen meist im unteren Theil der Cutis vorkommenden Elacinfasern. Wie das Elacin (s. Artikel Elacin) basophil gewordenes Elastin, so ist Kollacin basophil gewordenes Kollastin.

Zum Nachweise des Kollacins dienen daher dieselben Methoden wie zum Nachweise des Elacins, vor allem die in diesem Werke (s. Artikel Kollagen) beschriebenen: pol. Methylenblau-Säurefuchsin + Tanninmethode und die Safranin-

Wasserblau + Tanninmethode. Die genauere Untersuchung des strukturellen Zusammenhanges und der stets vorhandenen Uebergangsformen muss andrerseits den Beweis liefern, dass es sich nicht um Elacin, sondern um mit Elastin imprägnirtes (Kollastin) und sekundär basophil degenerirtes Kollagen handelt. Zu diesem Zwecke kombinirt man eine der angegebenen Färbemethoden mit einer vorhergehenden Orceïnfärbung auf Elastin.

Genauere Angaben über Kollacin findet der Leser in Unna: Basophiles Kollagen, Kollastin und Kollacin (Mon. prakt. Derm., Bd. 19, 1894), Krzysztalowicz: Inwieweit vermögen alle bisher angegebenen specifischen Färbungen des Elastins auch Elacin zu färben? Unna: Histopathologie der Haut, 1894, Hirschwald, Berlin.

Unna, Hamburg.

Kollagen. Kollagen soll leimgebende Substanz bedeuten; eigentlich müsste es κολλαγενέτωρ, Erzeuger des Leims, nicht κολλαγενής, vom Leim abstammend, heissen. Zu den leimgebenden Substanzen im allgemeinen gehört auch noch das Chondrogen der Knorpel, welches beim Kochen den Knorpelleim (Chondrin) liefert. Hier soll in tinktorieller Hinsicht nur das Kollagen im engeren Sinne betrachtet werden, welches in dem Bindegewebe, den Sehnen, Fascien, Bändern, Knochen und Zähnen der Wirbelthiere vorhanden ist und beim Kochen den Sehnen- oder Knochenleim (Glutin) liefert.

Innerhalb der Bindesubstanzen befindet sich das Kollagen im engsten Verein mit den protoplasmatischen Ausläufern der Bindegewebszellen (Fibroblasten) und mit elastischen Fasern; das erste Erforderniss einer tinktoriellen Isolirungsmethode für das Kollagen ist mithin eine scharfe Differenzirung vom Elastin und von demjenigen Theile des Protoplasmas, welches die Zellenausläufer der Hauptsache nach bildet, dem Spongioplasma. Da diese drei Substanzen sämmtlich oxyphil sind und von den meisten sauren Farben mehr oder weniger gut gefärbt werden, so bedarf es für den vorliegenden Zweck einer ganz besonderen Auswahl unter den sauren Farbstoffen. Für die tinktorielle Definition des Kollagens eignen sich diejenigen Farbstoffe am besten, welche wie die Sulfofarbstoffe der Rosaniline (Säurefuchsin, Wasserblau) neben der allgemeinen Affinität zu den oxyphilen Substanzen noch eine individuelle (specifische) zum Kollagen und gleichzeitig eine gegeringere zum Elastin und Spongioplasma besitzen.

Am leichtesten ist die Trennung vom elastischen Gewebe, da dieses ganz besondere, nur ihm eigenthümliche physikalische und chemische Eigenschaften besitzt; so genügt z. B. bei der Orceïnsäure (Orceïn Grübler), welche zu beiden Substanzen eine starke Verwandtschaft zeigt, der Zusatz einer Mineralsäure zu der (spirituösen) Lösung, um den Farbstoff dem Kollagen zu entziehen und auf dem säurefesteren Elastin zu fixiren. Viel schwieriger ist die tinktorielle Trennung der kollagenen Fasern von den Ausläufern der normalen Bindegewebszellen. In pathologischen Präparaten freilich, welche ja meistens eine Hypertrophie der Zellenleiber aufweisen, ist diese Schwierigkeit viel geringer, da mit der Hypertrophie des wabigen Spongioplasmas gleichzeitig eine mehr oder minder starke Anhäufung des amorph-körnigen, stark basophilen Granoplasmas (s. Artikel Plasmazellen) einhergeht, welches die Tingibilität des Protoplasmas beherrscht und in günstiger Weise modificirt. Es ist daher eine der leichtesten tinktoriellen Aufgaben, die der Hauptsache nach granoplastischen Plasmazellen mit dem sie umgebenden Kollagen kontrastirend zu färben; diese Bindegewebszellen haben eben ihre schwer vom Kollagen zu trennenden Ausläufer eingezogen. Auch die grossen, mit langen und dicken Ausläufern versehenen Spinnen- und Plattenzellen der Granulome und des Granulationsgewebes lassen wegen des nicht unbedeutenden Granoplasmagehaltes noch relativ leicht eine Gegenfärbung zum Kollagen zu. Dagegen gehört die Untersuchung der feinsten kollagenen

Fibrillen sowohl bei ihrer Bildung im Embryo wie im Granulationsgewebe neben den Ausläufern der Fibroblasten zu den schwierigsten Aufgaben der tinktoriellen Histologie.

Im übrigen ist die tinktorielle Definition des Kollagens eine einfache und seine Abgrenzung von den eingelagerten parenchymatösen Organen, Epithelschläuchen, Drüsen, Muskeln, Nerven durch die charakteristische Gegenfärbung letzterer stets eine scharfe. Auch die früher von Histologen für schwierig und oft für unmöglich gehaltene Differenzirung einzelner kollagener Bündel von glatten Muskelfasern, z. B. im Haarbalge, in der Tunica propria gewisser Drüsen, ist mittels der folgenden Färbemethoden stets leicht auszuführen. Die in mucinöse Grundsubstanz eingebetteten kollagenen Fibrillen der Nabelschnur sind dank der neueren Mucinfärbungen unschwer in Kontrastfarbe darstellbar und als solche sicher zu erkennen. Die tinktoriellen Eigenschaften des Nervenbindegewebes werden andernorts beschrieben; die kollagenen Scheiden der Nerven verhalten sich tinktoriell wie die übrigen Arten des Kollagens.

Was nun diese verschiedenen Formationen des Bindegewebes betrifft, so wächst der Werth der elektiven Färbemethoden natürlich mit der Feinheit und gleichmässigen Vertheilung des Kollagens. Die massigen und festen Formen, wie sie in den Sehnen, Aponeurosen, in der Sklera und Kornea und in den fibrösen Tumoren vorliegen, bedürfen derselben kaum, da hier die histologische Diagnose nie schwanken kann. Für diese Formationen haben dagegen einige Färbemethoden Werth, welche uns über die feinere physikalische und chemische Struktur des Kollagens und eventuelle Degenerationen desselben Aufschluss ertheilen und welche, da sie bisher noch sehr spärlich sind, am Schlusse kurz erwähnt werden sollen.

Wo das Kollagen nicht so rein, sondern untermischt mit Elastin, Muskeln, Fettgewebe und zum Theil in lockerer Form vorliegt, wie in den grossen Gefässen, der Haut, dem Uterus, der Lunge, sind die elektiven Tinktionsmethoden hauptsächlich am Platze, und diesen Fällen reihen sich von pathologischen Vorkommnissen diejenigen an, wo in kollagenarmen Geweben, z. B. Leber, Niere, Herz, Bindegewebe neu entsteht, oder wo es in kollagenreichen, z. B. Sehnen, Hirnhäuten, krankhaft zugrunde geht. Für diese Fälle passt die Mehrzahl der im Folgenden näher zu beschreibenden Färbungen.

Es giebt aber einzelne Fälle, wo dieselben nicht ausreichen und wo nur die sorgfältige Ausführung ganz besonderer, nur diesem Zwecke dienender Methoden das gewünschte Ziel erreichen lässt. Es sind dieses die bereits erwähnten Untersuchungen über die Entstehung der Fibrillen bei der Entwicklung und Regeneration des Bindegewebes, denen sich die ebenso schwierige über die Struktur des retikulären Bindegewebes der Lymphdrüsen, Lymphfollikel, der Milz u. s. f. und des sogenannten Retikulums der Granulome anschliesst. Alle diese Fälle haben das Gemeinsame, dass im engsten Raume eine Färbung die Differentialdiagnose: Protoplasma oder Kollagen entscheiden muss.

In der folgenden Uebersicht sind die hierzu brauchbaren Methoden als solche »zur feineren Analyse« besonders hervorgehoben; für die gewöhnlichen Bedürfnisse sind dieselben zu umständlich und einseitig.

A. Kern-Kollagen-Methoden.

Als solche fasse ich alle diejenigen — und es sind die grosse Mehrzahl — zusammen, welche ohne besondere Rücksichtnahme auf die tinktorielle Definition der Zellenleiber und Muskeln konstruirt sind und gewöhnlich ausser der guten Färbung des Kollagens nur noch die Kerne der Zellen als basophiler Elemente in Kontrastfarbe zeigen. Wir haben unter den hierher

gehörigen Methoden zwei Gruppen zu unterscheiden. Die erste Gruppe enthält die werthvolleren, bei denen die Färbung eine genaue Scheidung zwischen oxyphilen und basophilen Substanzen im Gewebe trifft, die zweite die minderwerthigen, welche weniger genau oxyphile und basophile Elemente erkennen lassen, dafür aber unter den ersteren weitere Differenzen, besonders zwischen Protoplasma und Kollagen aufdecken. Wegen ihrer Einfachheit eignen sich diese letzteren zu Uebersichtsbildern und geniessen zu diesem Zwecke auch eine grosse Verbreitung; zu genaueren wissenschaftlichen Untersuchungen, bei denen sie mit Unrecht auch noch vielfach in Gebrauch sind, genügen sie dagegen nicht; sie leiten über zu den Methoden der zweiten Hauptgruppe der (genauen) Protoplasma-Kollagen-Methoden.

I. Genaue Scheidung zwischen oxyphilen und basophilen Substanzen. Keine Scheidung zwischen Kollagen und Protoplasma.

a) Pol. Methylenblau-Säurefuchsin + Tannin-Methode: 1. Polychrome Methylenblaulösung (Grübler) 2—5 Minuten, je länger, je dünner der Schnitt. 2. Wasser, gut abspülen. 3. ($^1/_2$%ige) Säurefuchsin + (33%ige) Tanninmischung (Grübler) 10—15 Minuten. 4. Lange Abspülung in destill. Wasser (oder kurze in Leitungswasser). 5. Alkohol absol., Oel, Balsam.

Mit dieser Methode werden alle oxyphilen Substanzen: Kollagen, Protoplasma, Muskeln säurefuchsinroth gefärbt, während auf den basophilen Substanzen: dem Chromatin des Kerns, auf dem Keratin, gewissen Formen des Hyalins u. s. w. das Methylenblau dank der dem Säurefuchsin zugefügten Tanninbeize erhalten bleibt.

Wegen der präcisen Kernfärbung eignet die Methode sich für Uebersichtsbilder; doch liegt ihr Hauptwerth in dem raschen Aufschluss über die Ausbreitung und Stärke der Oxyphilie und Basophilie im Gewebe. Unersetzlich (nebst der folgenden Methode) ist sie beim Studium der künstlichen (durch Beizung) oder natürlichen (pathologischen) Basophilie oxyphiler und Oxyphilie basophiler Elemente im Gewebe (s. Artikel Elacin und Kollacin).

In hervorragendem Masse eignet sich für diese Methode die Fixation der Gewebe in Chromsalzen und Müller'scher Lösung; sodann auch die in Chromsäure, Alkohol, Sublimat und Pikrinsäure; dagegen ist sie nicht für Präparate verwendbar, die in den Gemischen von Hermann und Erlicki oder in Formol und Kupfersalzlösungen fixirt sind. Schnitte aus Flemming'scher Lösung zeigen bei dieser Färbung als Nebenwirkung blaues (künstlich basophiles) Elastin zwischen rothem Kollagen.

b) Safranin-Wasserblau + Tannin-Methode: 1. 1%ige wässerige Safraninlösung 10 Minuten. 2. Wasser, gut abspülen. 3. (1%) Wasserblau + (33%ige) Tanninmischung (möglichst frisch bereitet) 10—15 Minuten. 4. In destillirtem Wasser lange (oder in Leitungswasser kurz) abspülen. 5. Alkohol absol., Oel, Balsam.

Diese Methode ist das genaue Pendant der vorhergehenden; sie hat auf die Gewebe eine analoge Wirkung und demgemäss auch dasselbe Anwendungsgebiet. Sie unterscheidet sich von derselben hauptsächlich nur dadurch, dass sie bei Fixation der Gewebe in Alkohol, Salpetersäure und Pikrinsäure die besten Färbungen giebt und nur die Fixationen in Formol und Hermann'scher Lösung kontraindicirt sind. Die aus Flemming's Mischung stammenden Schnitte zeigen bei dieser Färbung rothe (künstlich basophile) elastische Fasern zwischen blauem Kollagen.

c) Säurefuchsin + Orange + Methylgrün-Methode (Ehrlich-Biondi-Heidenhain-Methode). Vergl. das Genauere über dieselbe pag. 75 dieses Werkes.

Diese ursprünglich für Blutpräparate ersonnene Methode sollte eigentlich neben grünen Kernen rothes Kollagen und orangefarbenes Protoplasma erzielen. Thäte sie das wirklich auch an Schnitten in zuverlässiger Weise, selbst nur bei einer einzelnen, bestimmten Fixation, so würde sie mehr leisten als die beiden vorigen Methoden und ihnen vorzuziehen sein. Nach meiner Erfahrung aber steht sie hinter jenen beiden zurück. Die Schwierigkeit, die ihr mit auf den Weg gegeben ist, und bei der raschen, fast momentanen Färbung von Blut- und Sekretpräparaten nicht, wohl aber bei der langsamen der Schnitte zur Geltung kommt, ist die Beigabe des basischen Methylgrüns zu den sauren Farben, welches die Kernfärbung besorgen soll. Der Erfolg der Färbung mit dieser Mischung hängt ganz von dem Gewichtsverhältniss der Komponenten und der Reaktion der Mischung ab; ersteres wird von jedem Autor anders angegeben, letzteres muss vor der Färbung geprüft und korrigirt werden (meist durch Zusatz von etwas Säure); ausserdem verändert sich mit der Zeit die Wirkung durch gegenseitige Bindung der Komponenten. Die Ansäuerung der Mischung verwischt zumeist den beabsichtigten Kontrast zwischen Kollagen und Protoplasmafärbung, so dass das Säurefuchsin die Oberhand behält. Dieser Kontrast lässt sich viel sicherer erreichen, wenn man das Methylgrün aus der Mischung fortlässt und seine Wirkung durch eine vorhergehende Kernfärbung mit Alaun-Hämateïn ersetzt (siehe unten Säurefuchsin-Orange-Methode).

Wegen ihrer grossen Verbreitung habe ich diese Methode wenigstens unter den Kern-Kollagen-Methoden aufgenommen; nach meiner Erfahrung zeigen am sichersten: grüne Kerne neben rothem Kollagen die Schnitte von Geweben, welche in Formol oder MÜLLER'scher Lösung fixirt wurden, nicht solche aus sublimatfixirten Geweben.

II. Weniger genaue Trennung von oxyphilen und basophilen Substanzen. Mehr oder minder deutliches Hervortreten von Protoplasma neben Kollagen.

a) Eosin-Methode. Hierunter verstehe ich die Nachfärbung des Gewebes mit einer beliebigen wässerigen oder alkoholischen Eosinlösung nach vorausgegangener Hämateïn-, Thionin-, Methylenblau- oder polychr. Methylenblaufärbung. Das Eosin färbt das Kollagen schön roth, aber in derselben Nuance auch das Protoplasma. Die eventuelle Differenzirung des letzteren hängt mithin ganz von der Färbung desselben bei der Vorfärbung ab. Ist dieselbe gesättigt, wie bei der Färbung mit der polychromen Lösung von Methylenblau, so wird durch die Nachfärbung mit Eosin zuweilen ein schöner Gegensatz zwischen Kollagen und Protoplasma hervorgerufen und die Bilder sind dann den durch die einfachen Kern-Kollagen-Methoden der ersten Gruppe gewonnenen vorzuziehen. Sie sind wie jene nur Uebersichtsbilder, aber ohne zugleich den Werth einer chemischen genauen Reaktion auf oxyphiles und basophiles Gewebe beanspruchen zu können.

Für genauere Untersuchungen der Grenzen und feineren Struktur des Kollagens sind sie werthlos. Was ihnen ihre Verbreitung verschafft hat, ist die bekannte Anspruchslosigkeit des Eosins, schon als blosser Zusatz zu dem entwässernden Alkohol eine angenehme Gegenfärbung zu erzeugen.

Am besten eignen sich zu diesen Eosinnachfärbungen Schnitte aus Geweben, welche mit Sublimat, Pikrinsäure oder den Mischungen von FLEMMING und ERLICKI fixirt wurden. Aber auch so ziemlich alle sonstigen Fixationen vertragen sich mit dieser Kollagenfärbung, nur nicht die HERMANN'sche.

b) Pikrokarmin-Methode. Eine ähnliche Verbreitung wie zur Zeit die Eosin-Methode genoss vor 20 Jahren die ursprünglich von RANVIER er-

sonnene, sodann vielfach variirte und schliesslich in Deutschland fast allseitig aufgegebene Pikrokarmin-Methode. Sie hat vor der Eosin-Methode den Vorzug der einzeitigen Kern-Kollagenfärbung voraus, besitzt andererseits aber nicht die Variationsfähigkeit jener. Durch bestimmte Mischungsverhältnisse der verwendeten Karmin- und Pikrinsäure kann man neben der Kernfärbung zugleich einen Farbenkontrast zwischen Kollagen und Protoplasma erzeugen, der jedoch nie in dem Grade rein ist, wie bei der van Gieson-Methode der analoge Kontrast zwischen Säurefuchsinroth und Pikringelb. Am besten tritt derselbe nach Fixation der Gewebe in Sublimat, Kupfersalzen, Flemming'scher Lösung und Formol hervor. Ganz unbrauchbar hierfür hat sich nur die Fixation in Müller's und Hermann's Mischungen erwiesen.

c) Hämateïn-Methode. Die Kollagenfärbung durch Alaun-Hämateïn tritt bei den gebräuchlichen Hämatoxylin-Methoden nur hervor, wenn die Schnitte nicht mit Säure nachbehandelt werden. Dann hält auch das Protoplasma einen gewissen Farbrest zurück und diese Farbantheile des Kollagens und Protoplasmas neben dem stets überwiegenden der Kerne können durch bestimmte Fixationen der Gewebe erhöht werden. Wie bei der Pikrokarmin-Methode sind hauptsächlich die Fixationen in Kupfersalzen und Sublimat gute Beizen für die Hämateïnfärbung des Kollagens, dann aber auch die Fixationen in Hermann's und Erlicki's Mischung und in Formol.

B. Protoplasma-Kollagen-Methoden.

Im Gegensatz zu den drei letztgenannten, zum Theil vielgebrauchten Methoden, welche trotz der hier und da bewirkten Gegenfärbung des Protoplasmas der Hauptsache nach doch lediglich Kern-Kollagen-Methoden sind, haben wir es hier mit durchaus zuverlässigen Differenzirungsmethoden für Protoplasma und Kollagen zu thun. Wie schon oben bemerkt, zerfallen dieselben in zwei Gruppen, je nachdem sie weniger scharf, dafür aber allgemein verwendbar oder nur bei besonderer Vorbehandlung, dafür aber zur feinsten Gewebsanalyse brauchbar sind.

Ein anderer Unterschied, der sich innerhalb der Methoden jeder Gruppe geltend macht, beruht auf der Möglichkeit, Protoplasma (und Muskelsubstanz) sowohl mit sauren wie basischen Farben anzufärben. Da das Kollagen unter allen Umständen zu einer haltbaren Färbung saure Farben verlangt, so sind zwischen Kollagen und Protoplasma sowohl Doppelfärbungen mit zwei sauren Farben wie mit einer sauren und einer basischen möglich. Bei der ersten Kategorie empfiehlt sich Säurefuchsin als Kollagenfarbe und eine nicht zu den Sulfofarben der Rosanilingruppe gehörige, gelbe, saure Farbe als Protoplasmafarbe, z. B. Pikrinsäure, Orange. Bei der zweiten Kategorie ist als gleichzeitige Kern- und Protoplasmafärbung die mittels polychromer Methylenblaulösung allen anderen Färbungen vorzuziehen und als Kollagenfarbe die Orceïnsäure, da sie eine weit geringere Verwandtschaft zum Protoplasma besitzt. Danach hätten wir die folgenden, exakten Protoplasma-Kollagen-Methoden:

I. Allgemein verwendbare, für Uebersichtsbilder empfehlenswerthe Methoden.

a) Säurefuchsin + Pikrin-Methode. (Modificirte van Gieson-Methode.) Säurefuchsin 0,25, Pikrinsäure 1.5, Salpetersäure 1,5, Glycerin 10,0, Aq. dest. ad 100,0.

Man löst das Säurefuchsin und die Pikrinsäure in der Mischung von Wasser und Glycerin unter Kochen und setzt zuletzt die Salpetersäure zu. In dieser haltbaren Mischung werden die Schnitte 5—10 Minuten gefärbt.

dann in Alkohol entwässert, in Oel aufgehellt und in Balsam eingeschlossen. Es resultirt eine sehr scharfe Rothfärbung des Kollagens, während Protoplasma, Muskeln und Elastin sich gelb oder orange färben. Diese Färbungsdifferenzen hängen sehr von der Art der Fixation ab, wie denn die letztere auch die Nuance der Rothfärbung des Kollagens wesentlich mitbestimmt. Aber stets ist der Kontrast zwischen Kollagen und Protoplasma ein befriedigender. Man kann Schnitte aus Geweben, die in Alkohol, Formol, Sublimat, Pikrinsäure, Salpetersäure, Chromsäure, Kalibichromat, Kupfersalzen und den Mischungen von Müller, Flemming, Hermann und Erlicki fixirt sind, mit gleich gutem Erfolge nach dieser Säurefuchsin + Pikrin-Methode auf Kollagen färben. Aber nur die Grenzen des Kollagens nach aussen treten scharf hervor; ein feineres Strukturbild desselben erhält man nicht. Ebensowenig finden sich die Details innerhalb der eingelagerten Protoplasma- und Muskelmassen gezeichnet. Es fehlt selbst jede Kernfärbung, welche man aber durch eine vorherige Hämateïnfärbung stets erzielen kann, wie es ja auch bei der van Gieson-Färbung, welche das Vorbild für diese Methode lieferte, allgemein gebräuchlich ist. Endlich ist diese Methode auch für die pathologischen Veränderungen des Kollagens weniger brauchbar als die folgende; insbesondere eignet sie sich nicht für die Untersuchung der Basophilie des Kollagens.

b) Pol. Methylenblau- neutr. Orceïnmethode: 1. Pol. Methylenblaulösung 10 Min. 2. Wasser, gut abspülen. 3. Schnitte auf dem Spatel mit Fliesspapier etwas entwässern. 4. 1%ige spirituöse Orceïnlösung ohne Säurezusatz 15 Min. 5. Alkohol absol., Bergamottöl (eventuell beides zu wiederholen, falls der Schnitt noch zu blau ist). 6. Balsam.

Mit Ausnahme der Fixationen in Salpetersäure, Pikrinsäure, Formol, Müller's und Hermann's Mischungen sind alle eben erwähnten Arten der Fixirung für diese Färbemethode geeignet. Sie liefert wie die vorige Methode einen scharfen und schönen Kontrast zwischen orceïnrothem Kollagen und bläulich-bräunlichem Protoplasma (und Muskeln), welcher besonders gut an Geweben hervortritt, die in Alkohol, Sublimat, Kalibichromat, Kupfersalzen und Erlicki's Mischung fixirt sind. Die Fixationen in Chromsäure und Flemming's Mischung bewirken auch einen scharfen Kontrast bei dieser Färbemethode, aber in der Weise, dass das Kollagen orceïnroth, das Protoplasma und die Muskeln vollkommen entfärbt erscheinen. Von diesen Fällen abgesehen ist aber stets das Protoplasma nebst Kernen und die Muskelsubstanz nicht blos äusserlich differenzirt, sondern auch in ihrer Struktur durch die polychrome Methylenblaulösung gezeichnet. Insbesondere giebt die einfache Alkoholhärtung vorzügliche Bilder des Grano- und Spongioplasmas der Zellen. Daher ist diese Methode der vorigen überall dort überlegen, wo das Kollagen unter pathologischen Verhältnissen und in zellenreichen Geweben zu untersuchen ist. Insbesondere giebt sie auch Aufschlüsse über eine etwaige Basophilie des Kollagens (bläuliche Färbung).

Als Nebenbefund ist zu erwähnen, dass die elastischen Fasern hin und wieder stärker orceïnroth vor dem Kollagen hervortreten, nämlich nach Fixation in Formol, Chromsäure und Flemming. Die oben als nicht geeignet für diese Methode bezeichneten Fixationen: Formol, Pikrinsäure und Müller'sche Lösung ergeben allerdings auch ein schön orceïnrothes Kollagen; nur ist bei ihnen die Aufnahme des Methylenblaus im Protoplasma und den Muskeln so schwach, dass der Kontrast ein zu geringer wird. Eine stärkere Methylenblauvorfärbung kann auch solche Präparate für die Methode geeignet machen.

II. Methoden für die feinere Analyse; sie bedürfen einer besonderen Vorbehandlung.

a) Säurefuchsin + Orange-Methode: Säurefuchsin 2,0, Orange 1,0. Glycerin 7,0, Aqua destillata ad 100,0.

Diese Farbmischung ist achtmal so stark an Säurefuchsin wie die oben besprochene Säurefuchsin + Pikrin-Methode und muss so stark sein, da nur die schwerer färbbaren mit Chromsäure- oder Flemming's Lösung gebeizten Schnitte dazu verwendbar sind und die Farbmischung keine freie Säure enthalten darf. Der Zusatz einer solchen würde die feinere Auslese zwischen Spongioplasma und Kollagen verwischen und fleckweise Mischfärbungen der Schnitte herbeiführen, die gerade streng vermieden werden sollen. Auch hier dient ein Zusatz von Glycerin dazu, die Auslese zu verschärfen, wobei allerdings die Zeitdauer der Färbung etwas verlängert wird (20—30 Sekunden). Aus der Farblösung kommen die Schnitte in Alkohol zur Entwässerung, Oel und Balsam.

Diese Methode hat lediglich den engbegrenzten Zweck, die feinsten kollagenen Fasern in sehr zellenreichen Geweben sicher kenntlich zu machen. Sie beruht auf der Wirkung der Chromsäure, das Protoplasma im Gegensatz zum Kollagen überhaupt weniger färbbar zu machen und den ohnehin schon vorhandenen Unterschied zwischen den Affinitäten des Protoplasmas und des Kollagens zum Säurefuchsin derart zu verstärken, dass nur das letztere das Säurefuchsin, das Protoplasma aber lediglich das Orange aufnimmt. Ausser dem Protoplasma werden auch die Kerne deutlich orange gefärbt; überdies treten noch feinere tinktorielle Differenzen an den verschiedenen Zellenarten und den Blutkörperchen ein, auf die hier nur hingewiesen werden kann.

Diese Methode ist hauptsächlich zu dem Zwecke ausgearbeitet, die Struktur des retikulären Kollagens in den Lymphdrüsen und dem adenoiden Gewebe überhaupt, sowie das atrophische Kollagen innerhalb der Plasmome (sogenanntes Retikulum der infektiösen Geschwülste) besser studiren zu können.

b) Neutr. Orceïn-polychr. Methylenblau-Glycerinäther-Methode. 1. 1 %ige spirituöse Orceïnlösung ohne Säurezusatz 15 Min. 2. Alkohol abs. oder Alkohol 80 %. 3. Wasser; in beiden nur kurz abspülen. 4. Pol. Methylenblaulösung (Grübler) 2—5 Min. 5. Wasser, kurz abspülen. 6. Glycerinäther-Mischung verdünnt (1:3 Aq.) 1—2 Min. 7. Wasser (gut abspülen), 8. Alkohol absol.. Oel, Balsam.

Was die vorhergehende Methode für die Erkennung der feinsten Kollagenfibrillen unter Protoplasmamassen, das ist die Orceïn-Methylenblau-Glycerinäther-Methode für die tinktorielle Analyse feinster Protoplasmaausläufer zwischen Kollagenmassen. Wegen der möglichst intensiven Färbung der spongioplastischen Ausläufer mittels des basischen Methylenblaus (resp. Methylenazurs) passt für diese Methode nur eine einzige Vorbehandlung, diejenige mit absolutem Alkohol. Auf das Sorgfältigste ist insbesondere die Berührung der Schnitte mit Gerbsäure vor und nach der Färbung zu vermeiden, wozu schon der Verschluss der Präparatengläser mit Korken oder das Aufkleben der Blöcke auf Kork oder Holz gehört (falls dieselben nicht durch Auskochen mit Alkalien von Gerbsäure vollständig befreit sind). Ebenso macht die Berührung des Gewebes mit Metallsalzen die Färbung unmöglich.

c) Flemming's Safranin-Gentiana-Orange-Methode. In seinen Arbeiten: Zur Entwicklungsgeschichte der Bindegewebsfibrillen (Virchow's Festschrift, 1891, Hirschwald) und über die Entwicklung der kollagenen Bindegewebsfibrillen bei Amphibien und Säugethieren (Arch. für. Anat..

1897, pag. 171) hat FLEMMING mitgetheilt, dass mit seiner Dreifarbenmethode in ausgezeichneter Weise feinste, junge Kollagenfibrillen innerhalb der Zellen tinktoriell zur Anschauung gebracht werden können. Auch für diese Methode ist eine specielle Vorbehandlung, welche die Kluft zwischen den tinktoriellen Affinitäten des Protoplasmas und des Kollagens erweitert, nothwendig: die Fixation in FLEMMING's Chromessigosmiumgemisch. Diese Färbemethode wird auf pag. 386 dieses Werkes ausführlich besprochen weshalb hier dieser Hinweis genügen wird.

Wahrscheinlich hat diese Methode, ebenso wie die beiden vorhergehenden, eine allgemeine Anwendbarkeit für die feinere Analyse der Protoplasma-Kollagengrenze.

C. Elastin-Kollagen-Methoden.

I. Für normales Elastin.

Säurefuchsin-Orceïn-Methode: Orceïn (GRÜBLER) 1,0, Säurefuchsin 0,1, Salzsäure 2,0, Alkohol absolutus 60,0, Glycerin 10,0, Wasser ad 100,0.

Es kann nicht im Plane dieses Werkes liegen, alle möglichen oder auch nur besten Methoden anzugeben, nach denen Elastin und Kollagen in Kontrastfarben dargestellt werden können; ihre Zahl lässt sich beliebig vermehren, vorausgesetzt, dass man das Ziel in doppeltem Färbegang erreichen will. Hier kann es sich nur um die praktischeste Art handeln, Elastin und Kollagen in einzeitiger Färbung schön in Kontrastfarben darzustellen.

Die hier angegebene Methode beruht auf dem Umstande, dass die Orceïnsäure in saurer Lösung wenig Affinität zum Kollagen, dagegen eine grosse zum Elastin bekundet, während das Säurefuchsin gar keine Verwandtschaft zum Elastin, dagegen eine sehr starke zum Kollagen besitzt, vorzüglich in saurer Lösung. Um eine kräftige Elastinfärbung zu erreichen, genügt eine kurze Färbung nicht. Die Schnitte bleiben 2 bis 4 Stunden in obiger Mischung. Sie kommen aus derselben direkt in Alkohol absolutus, Oel und Balsam. Diese Färbemethode ist auf Gewebe aus allen möglichen Fixationsflüssigkeiten in gleicher Weise anwendbar. Man erhält ausser einer schön braunen Elastinfärbung und einer dunkelrothen Kollagenfärbung die anderen oxyphilen Substanzen (Muskeln, Protoplasma), in verschiedenem Grade säurefuchsinroth mitgefärbt, ebenso aber auch paradoxer Weise Kerne und sogar — wenn auch schwach — das Granoplasma. Eine zu starke Säurefuchsinfärbung schwächt man momentan ab durch Eintauchen in (kalkhaltiges) Leitungswasser oder Sodalösung, muss aber dann vor dem Einbetten die Schnitte erst wieder in sauren Alkohol bringen; man erhält dann unter Umständen feinere Abstufungen des Säurefuchsinroths auf den oxyphilen Substanzen.

II. Für künstlich basophiles Elastin.

Wie schon oben bemerkt, ist das Elastin nach Behandlung mit FLEMMING's und HERMANN's Mischungen künstlich basophil geworden und fixirt, besonders bei nachträglicher Tanninbeize in hohem Grade basische Farbstoffe. Daher erscheint es blau auf rothem Grunde bei der Methylenblau-Säurefuchsin + Tanninfärbung und roth auf blauem Grunde bei der Safranin Wasserblau + Tanninfärbung von FLEMMING- (resp. HERMANN-) Schnitten.

D. Glatte Muskel-Elastin-Kollagen-Methode.

Wasserblau + Orceïn-Methode. Orceïn (GRÜBLER) 1,00, Wasserblau 0,25, Alkohol absol. 60,00, Glycerin 10,00, Wasser ad 100,00.

Diese Mischung von Orceïnsäure und Wasserblau giebt bei längerer Färbung (am besten eine Nacht) eine ganz vorzügliche einzeitige Kontrastfärbung aller Bindesubstanzen und Epithelien in fein abgestuften Nuancen in der Weise, dass das Kollagen das Wasserblau, das Elastin das Orceïn, die Muskeln aber, sowie das Protoplasma Mischungen beider Farben bevorzugen. Entwässert man die Schnitte mit einfachem Alkohol, so wiegt die Orceïnfärbung in rothen und violetten Tönen vor, entwässert man durch sauren Alkohol, so bleiben diese Orceïntöne den Muskeln, dem Protoplasma und dem Elastin grösstentheils erhalten, während das Kollagen sich rein blau umfärbt. Auf diese Weise entstehen in saurem Alkohol noch kontrastreichere Bilder als in neutralem bei den meisten Fixationen; doch zeigen Schnitte, die in Formol, MÜLLER'scher und FLEMMING'scher Lösung fixirt sind, auch bei einfacher Alkoholentwässerung sehr kontrastreiche Bilder. Noch weit besser als mit der vorhergehenden Säurefuchsin + Orceïn-Methode treten bei dieser Methode durch den besonderen Einfluss des Wasserblaus Zellleiber und Kerne hervor und kommt durch »reciproke Beizung« selbst eine nicht üble Kernchromatin- und Granoplasmafärbung mittels dieser Mischung zweier sauren Farben zustande. Ein weiterer Vorzug dieser ebenso einfachen wie vielseitigen Färbemethode ist ihre Anwendbarkeit auf alle, in den verschiedensten Flüssigkeiten fixirten Gewebe; es wechseln nur die Nuancen der Farben, die Kontraste bleiben bestehen.

E. Methoden zur Darstellung der fibrillären Struktur des kollagenen Gewebes.

Die Fixirung in FLEMMING's Mischung hat ausser ihren mannigfachen Vorzügen für die Darstellung des Kernchromatins und des basophilen Elastins auch in Bezug auf das Kollagen einen unschätzbaren Vorzug, der durch keine andere Fixationsmethode bisher erreicht wird, sie befördert an den dickeren Kollagenbündeln das Sichtbarwerden der fibrillären Struktur, so dass diese bei geeigneter Färbung ungemein klar zur Anschauung kommt. Am besten erreicht man dieses Bild durch ein 10 Minuten langes Färben der Schnitte von in FLEMMING'scher Lösung fixirten Geweben in der auf 37 bis 40° erwärmten, spirituösen Orceïnlösung ohne Säurezusatz. Wünscht man an denselben Schnitten gleichzeitig eine kontrastirende Elastinfärbung, so müssen dieselben eine Nacht entweder in angesäuerter Orceïnlösung oder in polychromer Methylenblaulösung vorher verweilen. In ersterem Falle erscheint das Elastin dunkel orceïnbraun, in letzterem blau; bei ersterem ist die abgeschwächte Orceïnophilie des Elastins, bei letzterem die künstlich gewonnene Basophilie des Elastins in Anspruch genommen. Die neutrale Orceïnlösung erzeugt das fibrilläre Strukturbild des Kollagens wahrscheinlich durch eine leichte Maceration desselben während der Färbung.

Eine ähnliche Färbung der Fibrillen erhält man durch die oben besprochene Wasserblau-Orceïn-Methode an Schnitten aus nach FLEMMING fixirten Geweben.*

Anhang.

Basophiles Kollagen.

Bei der Bildung des Kollagens im Granulationsgewebe tritt ein provisorisches, grobes, parallelfaseriges oder genauer: in parallel zur Oberfläche gelagerten Platten abgesondertes, kollagenes Gewebe auf, welches erst all-

* Die Praxis und Theorie der in diesem Artikel erwähnten Kollagenmethoden finden sich ausführlich erörtert in UNNA [1]) und UNNA. [2])

mählich durch normales, feinfibrilläres Kollagen ersetzt wird. Auch tinktoriell verhält es sich abweichend, es hält basische Farbstoffe fester, es ist basophil. Auch beim Schwunde des Kollagens und bei den verschiedensten Degenerationsprocessen: Verwitterung, beim Myxödem der Haut, bei Vereiterung, Nekrosen u. s. f. lässt sich an einzelnen Faserbündeln eine Basophilie nachweisen; oft befällt sie nur einen Theil langgestreckter Balken, ein Ende oder den centralen Theil, in anderen Fällen ganze Faserbündel oder selbst Gruppen solcher. Stets herrscht in dieser Veränderung eine auffallende Unregelmässigkeit, so dass sich weder ganze, systematisch abgegrenzte Bindegewebsschichten basophil verändert zeigen, noch bestimmte Organe, Regionen, Altersstufen oder Processe regelmässig damit behaftet sind. Bis jetzt bildet daher die Basophilie des Kollagens nur einen zufälligen Nebenbefund.

Bei dem Nachweise basophilen Kollagens, speciell einzelner basophiler Fasern ist besondere Vorsicht nöthig, da eine Eintrocknung der Präparate sowohl im Celloidin, wie bei den Färbungsproceduren durch veränderte Farbenreaktion des Kollagens eine spontane Basophilie desselben vortäuscht: diese »künstliche Basophilie« lässt sich jedoch meistens leicht erkennen; sie befällt mit Vorliebe die Schnittränder, die Aussenwand von Gefässen, Muskeln, eingelagerten Drüsen etc.

Zum Nachweise dienen die beiden oben zur Trennung oxyphiler und basophiler Substanzen angegebenen Methoden, die pol. Methylenblau-Säurefuchsin + Tannin-Methode und die Safranin-Wasserblau + Tannin-Methode. Es ist durchaus nöthig, die auf basophiles Kollagen zu untersuchenden Gewebe wenigstens theilweise in reinem Alkohol zu fixiren, da die bisherigen Untersuchungen und Angaben sich nur auf solches Material beziehen. Keinenfalls dürfen Fixationen wie die in FLEMMING's oder HERMANN's Lösung allein benutzt werden, welche selbst eine künstliche Basophilie des Elastins herbeiführen; aber auch andere Fixationen, z. B. die in Chromsalzen und Pikrinsäure, welche bei der Trennung der oxyphilen und basophilen, normalen Substanzen gute Dienste leisten, müssen vorderhand noch, wenn sie zur Aufsuchung von basophilem (pathologischem) Kollagen dienen, durch ebenso gefärbte, in Alkohol fixirte Präparate kontrolirt werden.[3 u. 4])

Ueber Kollacin und Kollastin siehe die betreffenden Artikel dieses Werkes.

Litteratur: [1]) UNNA (Mon. prakt. Derm., Bd. 18, 1894), [2]) derselbe (ebenda, Bd. 34, pag. 359, 1902), [3]) derselbe (ebenda, Bd. 19, 1894), [4]) KRZYSTALOWICZ (ebenda, Bd. 30, 1900).

Unna, Hamburg.

Kollastin. Kollastin ist eine Substanz, welche sich tinktoriell wie Elastin verhält, der Struktur nach aber dem kollagenen Gewebe gleicht oder seine Herkunft aus demselben durch analoge Struktur oder stofflichen Zusammenhang mit demselben dokumentirt.

Aus dieser Definition geht hervor, dass die Methoden der Elastindarstellung auch zugleich zum Nachweise des Kollastins dienen können, obwohl thatsächlich bisher nur die Orceïnmethode in ausgedehntem Massstabe hierfür verwerthet ist. Erst das weitere Studium der feineren Gewebsstruktur erlaubt, das Kollastin einerseits vom Elastin zu trennen, andererseits seine genetischen Beziehungen zum Kollagen aufzudecken.

Das Aussehen des Kollastins, wie es sehr reichlich in verwitterter Gesichtshaut (sog. senile Degeneration der Haut) und bei der kolloiden Degeneration der Gesichtshaut vorkommt, ist theils das von groben, wie gequollenen Massen und Blöcken oder kleineren vielgestaltigen Körnern und Krümeln, theils das von dichtverfilzten, dicken, unregelmässig gewundenen Fasern; die letzteren Fasern scheinen die weniger stark degenerirten zu sein. Diese Massen sind von der sich wie Elastin färbenden Substanz meistens

nicht vollständig durchdrungen, sondern häufig nur oberflächlich imprägnirt, so dass bei einer geeigneten Kontrastfärbung zwischen Kollagen und Kollastin, z. B. mit Säurefuchsin und Orceïn, die rothe Kollagenfarbe noch an den inneren Schichten haftet, während die Rinde derselben orceïnfarben wird.

Besonders schön zeigen dieses partielle Eindringen der Elastinfärbung in das Innere gröberer Kollagenbalken degenerirte Partien beim Myxödem der Haut.

Zur genaueren Untersuchung des Kollastins eignet sich am besten die Kombination einer starken Vorfärbung des Elastins mittels angesäuerter Orceïnlösung mit einer Nachfärbung mittels einer der Säurefuchsinfärbungen für Kollagen. Man kann als letztere ebensogut die von mir angegebene Säurefuchsin-Pikrin-Methode* wie die modificierte VAN GIESON-Färbung (Säurefuchsin- + Pikrin-Methode** benutzen. Bequemer noch sind die ebenfalls unter Kollagen in diesem Werke beschriebenen einzeitigen Doppelfärbungen, die Säurefuchsin-Orceïnmethode und die Wasserblau-Orceïnmethode.

Genaueres über Kollastin findet der Leser in den folgenden Artikeln: UNNA, Basophiles Kollagen, Kollastin und Kollacin (Mon. prakt. Derm. Bd. 19, 1894); KRZYSZTALOWICZ (Mon. prakt. Derm. Bd. 30, 1900); UNNA, Histopathologie der Haut, 1894, Hirschwald, Berlin. *Unna*, Hamburg.

Kollodium, Dinitrocellulose: $C_6H_8(NO_2)_2O_5$, wird erhalten durch Eintragen von getrockneter und entfetteter Baumwolle in ein Gemisch von englischer Schwefelsäure und roher Salpetersäure oder von englischer Schwefelsäure und Kaliumnitrat. Die entstehende Kollodiumwolle ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether, löst sich dagegen leicht in Aetheralkohol, Methylalkohol und Essigäther. Das Kollodium der Pharmakopoe wird hergestellt durch Befeuchten von 1 Theil Kollodiumwolle mit 3 Theilen 90%igem Alkohol und Lösen in 24 Theilen Aether.

Das in der Technik und in der Medicin so vielfach benutzte Kollodium hat auch in der Mikrotechnik mannigfache Verwendung gefunden.

Ausser als Einbettungsmittel (Näheres siehe Artikel Celloidin) dient es auch als Klebemittel in Verbindung mit Nelkenöl oder Ricinusöl.

SCHÄLLIBAUM mischt 3—4 Theile Kollodium und 1 Theil Nelkenöl, RABL 2 Theile Kollodium und 3 Theile Nelkenöl, STRASSER 2 Theile Kollodium, 3 Theile Aether und 1 Theil Ricinusöl. (Näheres siehe Aufklebemethoden.)

Kolloxylin siehe Celloidin.

Kolophonium, Geigenharz, ist das von Terpentinöl befreite Harz von Pinusarten, besonders der Pinus australis und Pinus taeda. Es stellt eine glasartig durchsichtige Masse dar, die in Alkohol, Benzin, Terpentinöl, Benzol, sowie auch in Essigsäure und Natronlauge löslich ist.

Die Lösungen von Kolophonium in den ersten drei genannten Lösungsmitteln finden als Einschlussmittel Verwendung, so Benzinkolophonium besonders von NISSL, REHM, LORD bei der Darstellung der Nervenzellen (siehe den Artikel Nervenzellen).

RUPRECHT bettet bei seinem Verfahren der Imprägnation der Knochenhöhlen die Schnitte ebenfalls in einer Lösung von Kolophonium in wasserfreiem Benzol unter Erwärmen des Objektträgers ein.

EHRENBAUM benutzt eine Mischung von 10 Theilen Kolophonium und 1 Theil Wachs als Schleifmasse.

* UNNA, Neue Untersuchungen über Kollagenfärbung. (Mon. prakt. Dermat., Bd. 34.)
** Ebendaselbst; siehe auch Artikel: »Kollagen« in diesem Werke.

Siehe auch KRÖNIG'scher Lack.

Litteratur: EHRENBAUM (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 1, 1884). — RUPRECHT (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896). *Mosse*, Berlin.

Kompensationsokular siehe Mikroskop.

Kompressorien siehe Lebendes Objekt, Beobachtung desselben.

Kondensor siehe Mikroskop.

Kopal ist ein Harz, das zu den härtesten aller Harze gehört. Nach HEYDENREICH haben die Kopale der verschiedenen Länder folgende Eigenschaften: Ostindischer, nach den Wäschereien an der Ostküste Afrikas auch Zansibarkopal genannt, ist farblos, gelb- bis dunkelrothbraun, durchsichtig; Bombaykopal rothgelb mit glasigem Bruch; Kopal von Sierra-Leone und Gabonkopal sind ebenfalls hart, während die anderen Sorten weicher sind.

HEYDENREICH verwendet einen Deckglaskitt bestehend aus gleichen Theilen Kopal- und Bernsteinlack (je 25 Gewichtstheile), 50 Theilen Leinölfirniss, 50—60 Theilen Ol. Lavandulae, 40—60 Theilen künstlichen Zinnobers (Eosin oder Zinnober).

Kopal wird fernerhin als Einbettungmasse benutzt, und zwar von KOCH zum Schleifen von Korallen. Kopal wird mit Sand in einem Mörser verrieben, Chloroform hinzugethan, filtrirt; in diese Lösung werden die vorhergefärbten Korallen gethan, das Chloroform wird zum Verdunsten gebracht, dann werden Schliffe gemacht.

Litteratur: HEYDENREICH (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 2, 1885), KOCH (Zool. Anz. Bd. 1, 1878). *Mosse*, Berlin.

Korallen siehe Coelenteraten.

Korkstoff siehe Zellmembranen, pflanzliche.

Korrosion. Man versteht unter Korrosion ganz allgemein das Wegschaffen von Weichtheilen, um Hartgebilde oder künstlich ausgefüllte Hohlräume freizulegen. Man bedient sich dazu entweder der koncentrirten oder verdünnten Mineralsäuren, vor allem Salz- und Salpetersäure oder der Laugen oder des nascirenden Chlors in Eau de Javelle oder Eau de Labaraque (Näheres siehe in den Artikeln Knochen und Injektion).

Krapp siehe Alizarin, Knochen, Färbung, intravitale; siehe auch Glykoside.

Kreosol, $C_8H_{10}O_2$, Methyläther des Homobrenzkatechins, findet sich im Buchenholztheer und bildet einen wesentlichen Bestandtheil der gegen 220° siedenden Fraktion.

UNNA verwendet Kreosol bei der Darstellung der Mastzellen. Er färbt mit Methylenblau, entwässert mit Alkohol oder Anilinöl und entfärbt in Kreosol; die Zeitdauer der Entfärbung muss unter dem Mikroskop festgestellt werden, sie erfolgt in einigen Minuten bis zu mehreren Stunden je nach Objekt und Stärke der Färbung. Die Mastzellen erscheinen kirschroth, die übrigen Bindegewebszellen blau.

Litteratur: UNNA (Mon. prakt. Dermat., Bd. 12, 1891), VAN DER SPEK und UNNA (ebenda, Bd. 13, 1891). *Mosse*, Berlin.

Kreosot. Mit diesem Namen bezeichnet man die Destillationsprodukte verschiedener Holzarten, besonders den zwischen 180 und 300° siedenden Antheil des Buchenholztheers, der aus einem Gemenge verschiedener Phenole und deren Aether besteht. Das Kreosot enthält Phenol, Kresol, Phlorol, Guajakol, Kreosol und Derivate des Pyrogallols.

Wegen des Gehalts an freien Phenolen reagirt Kreosot sauer; es zeigt die Reaktionen der in ihm enthaltenen Phenole, die zum Theil durch Ueberführung in Salze aus dem Gemisch isolirt werden können. *Neuberg*, Berlin.

Das Kreosot ist früher sehr häufig als Aufhellungsmittel benutzt worden. Dazu befähigt es einmal sein hoher Brechungsindex (1,539) und dann seine Fähigkeit, sich mit Alkohol glatt zu mischen. Es ist nicht sehr wasserempfindlich, da es sich zu ca. 0,8% in Wasser löst.

Celloidin wird nicht von ihm angegriffen, doch zieht es wegen seines Gehalts an Phenol manche Anilinfarben aus. Auch osmirtes Fett löst es in beträchtlichem Masse. Sein Gehalt an Phenol bedingt auch seine Verwendung als Antiseptikum zum Haltbarmachen von Gummilösungen, Farbstofflösungen etc. Auf die Dauer wird das Arbeiten mit Kreosot des durchdringenden Geruches wegen unangenehm.

Kresofuchsin. Als Kresofuchsin wird ein Farbstoff bezeichnet, der von Spiegel dargestellt und von Röthig auf sein färberisches Verhalten hin untersucht worden ist. Wahrscheinlich handelt es sich um denselben Farbkörper, den Weigert durch Behandlung von Fuchsin mit Resorcin und Eisenchlorid erhalten hat. Es ist ein amorphes, graublaues Pulver, das sich in Wasser schwer mit rother, leichter in Alkohol mit blauer Farbe löst. Leicht löslich ist es in Aceton oder Eisessig, unlöslich in Benzol. Die wässerige Lösung färbt nach Röthig Schleim, Knorpelgrundsubstanz und Keratin roth, die alkoholische das Elastin blau. Zur Färbung des Elastins verwendet Röthig eine $^1/_2$%ige Stammlösung in 95%igem Alkohol mit Zusatz von 3% Salzsäure. Von ihr bereitet man sich die definitive Farblösung durch Mischen von 40 Ccm. Stammlösung mit 24 Ccm. 95%igen Alkohols und 32 Tropfen einer wässerigen Pikrinsäure, welche durch Verdünnen von 1 Theil koncentrirter wässeriger Pikrinsäure mit 2 Theilen Wasser erhalten wird. Färbung 2 Stunden, dann Ueberführen in 95%igen Alkohol, bis der überschüssige Farbstoff ausgezogen ist.

Litteratur: Röthig (Arch. mikr. Anat., Bd. 56, 1900).

Kresylviolett R, Oxazinfarbstoff (Leonhardt). In Wasser und Alkohol mit starker Fluorescenz und rothvioletter Farbe löslich. Die wässerige Lösung giebt mit Salzsäure einen braunen, mit Natronlauge einen gelben Niederschlag.

Ein guter Kernfarbstoff, der starke Metachromasie zeigt (Näheres siehe Metachromasie).

Bielschowsky und Plien verwenden ihn zur Färbung der Nervenzellen in ganz schwacher wässeriger Lösung.

Litteratur: Ehrlich und Lazarus (Die Anämie in Nothnagel's Specielle Pathologie und Therapie, Bd. 8, Th. 1, Wien 1898), Bielschowsky und Plien (Neurolog. Centr., 19. Jahrg., 1901).

Krönig'scher Lack, ein Einschlusskitt, zu dessen Bereitung zwei Theile Wachs im Porzellanschälchen geschmolzen, dann nach und nach mit sieben Theilen Kolophonium verrührt werden. Das Gemisch wird durch Gaze filtrirt; dann lässt man es erkalten.

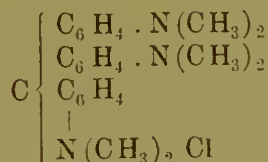
Litteratur: Krönig (Arch. mikr. Anat., Bd. 27, 1886). *Mosse*, Berlin.

Krystalle in Pflanzenzellen s. Calciumverbindungen in Pflanzenzellen.

Krystalloide (Eiweiss-) siehe Eiweissstoffe in Pflanzenzellen.

Krystallponceau, Monazofarbstoff (Berlin, Ludwigshafen). braunrothe Krystalle, in Wasser und Alkohol mit rother, in Schwefelsäure mit violetter Farbe löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Natronlauge braun. mit viel Salzsäure entsteht ein brauner, krystallinischer Niederschlag.

Krystallviolett, Chlorhydrat des Hexamethylpararosanilins:



(Ludwigshafen) in Wasser und Alkohol leicht lösliche Krystalle. In Schwefelsäure mit gelber Farbe löslich, die beim Verdünnen in blau umschlägt. Die wässerige Lösung färbt sich beim Zusatz von Salzsäure erst blau, dann grün und schliesslich gelb, mit Natronlauge entsteht ein violetter Niederschlag.

Das Krystallviolett ist ein sehr naher Verwandter des Methylvioletts und zum Theil auch in jenem enthalten. Es ist gleichfalls ein guter Kernfarbstoff, der sich auch zum Färben von Bakterien vortrefflich eignet und zu diesem Zwecke zuerst von Kühne empfohlen worden ist.

Hermann benutzt zur Färbung der Tuberkelbacillen eine Lösung von 1 Grm. Farbstoff in 30 Ccm. 95%igen Alkohols. Von dieser Lösung tropft man in 1%iges Ammoniumkarbonat so lange ein, bis die Lösung auf Fliesspapier einen dunklen Fleck giebt. Färbung der Trockenpräparate in der bis zum Sieden erhitzten Farblösung 1 Minute, dann 4—5 Sekunden $^1/_{10}$%ige Salpetersäure, dann kurz 95%igen Alkohol, Trocknen über der Flamme, Balsam.

Man kann auch nach der Salpetersäure eine Doppelfärbung mit 1%igem Eosin in 60%igem Alkohol einschieben. Für Schnitte nimmt man $^1/_4$%ige Salpetersäure und bringt nach dem Alkohol in Xylol.

Kromayer benutzt das Krystallviolett an Stelle des Gentianavioletts zur Färbung der Protoplasmafasern (Näheres siehe Haut), Sjöbring empfiehlt es in 1%iger Lösung in 50%igem Alkohol zur Vorfärbung bei der Eisenhämatoxylinmethode. (Ueber die Verwendung des Krystallvioletts zur Färbung der elastischen Fasern nach Köppen siehe Elastin.)

Litteratur: Kühne (Dermat. Stud., Heft 6, 1887), Herman (Ann. Inst. Pasteur, Bd. 3, 1889), Sjöbring (Anat. Anz., Bd. 17, 1900), Kromayer (Arch. mikr. Anat., Bd. 39, 1892).

Kühlvorrichtungen am Mikrotom. Um bei warmem Wetter von hartem Paraffin oder auch für gewöhnlich von weicheren Paraffinsorten noch recht feine Schnitte zu bekommen, hat man Vorrichtungen ersonnen, welche auf eine Abkühlung sowohl des Paraffinblockes als auch des Messers abzielen. So kann man den Paraffinblock auf eine kleine Metalltrommel aufsetzen, die entweder durch den Aetherspray oder durch Kohlensäure oder mittels durchströmenden Eiswassers gekühlt wird. Man kann auch den Paraffinblock in die Mitte eines Metallrahmens aufkitten und ihn mit Eisstückchen umgeben, so dass nur noch die Schnittfläche etwas über den Rahmen hervorragt. Es ist aber in solchen Fällen auch nöthig, das Messer selbst zu kühlen. Zu diesem Zweck hat Stoss ein Kühlmesser konstruirt, dessen Rücken von einem längs verlaufenden Kanal durchbohrt ist und von abgekühlter Luft oder Eiswasser durchströmt wird.

Litteratur: Stoss (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 8, 1891).

Kupfer. Zum Nachweis von Kupfer in den Geweben fixiren Boyce und Herdman in Alkohol und betten in Paraffin ein. Zur Verwendung dürfen nur Kupfer-, Eisen- und säurefreie Reagentien kommen, auch soll längerer Aufenthalt in Wasser vermieden werden.

Die Schnitte werden in destill. Wasser kurz abgespült und kommen in eine $1^1/_2$%ige Lösung von Ferrocyankalium, der man eventuell kurz vor dem Gebrauche das gleiche Volum 0,5%iger Salzsäure zusetzt. In dieser

Lösung färben sich kupferhaltige Theile roth. Oder man bringt die Schnitte in frisch bereitete Lösung von Ammoniumsulfhydrat, in der sich die kupferhaltigen Partien gelbbraun färben. Eine dritte Methode des Nachweises besteht endlich darin, dass man die Schnitte in ein Uhrglas mit Wasser bringt, in dem sich einige Hämatoxylinkrystalle befinden: die kupferhaltigen Theile färben sich intensiv blau.

Litteratur: Boyce und Herdman (Proc. Roy. Soc. London, Bd. 61, 1897).

Kupferacetat, Cuprum aceticum, Cupriacetat, neutrales essigsaures Kupfer: $(C_2H_3O_2)_2Cu + H_2O$, bildet dunkelblaugrüne Krystalle vom spec. Gew. 1,914, bei 15° zu 7% in Wasser löslich, auch in Alkohol, besonders bei Zusatz von Essigsäure löslich.

Das Kupferacetat findet ähnlich wie die übrigen löslichen Kupfersalze in der technischen Färberei eine beschränkte Verwendung als Beize für Katechu und Blauholz, mit welchen es braun oder schwarz gefärbte Lacke liefert. Aehnlich wird es auch in ausgedehnter Weise in der Mikrotechnik als Beize für Hämatoxylin besonders zur Färbung der Achsencylinder nach der Weigert'schen Methode verwendet. (Näheres siehe Hämatoxylin und Nervenfasern.)

Das Kupferacetat ist ferner ein Bestandtheil der besonders von französischen Histologen vielfach verwendeten Ripart und Petit'schen Flüssigkeit. Dieselbe besteht aus Kupferacetat 0,3 Grm., Kupferchlorid 0,3 Grm., Eisessig 1 Ccm., schwaches Kampherwasser 75 Ccm. und destillirtes Wasser 75 Ccm. Man kann noch eine Spur Osmiumsäure oder Sublimat zusetzen. Löst man in dieser Mischung etwas Methylgrün, so erhält man eine gleichzeitig fixirende und färbende Flüssigkeit, welche sich auch als Einschlussmedium für zarte Gewebe eignet.

Kupferammoniumoxyd, $CuO + 4(NH_4 . OH)$, tiefblaue Flüssigkeit, die entsteht durch Lösung von Kupferblech in starkem Ammoniak. Es wird als Reagens auf Tunicin und Cellulose benutzt. (Näheres siehe Zellmembranen, pflanzliche.)

Kupferchlorid, $CuCl_2 + 2H_2O$, grüne, leicht zerfliessliche Krystalle, die in Wasser und Alkohol leicht löslich sind. Die koncentrirte wässerige Lösung ist grün, die verdünnte blau. Bei ca. 100° verliert es sein Krystallwasser und bildet eine gelbbraune zerfliessliche Masse. Das Kupferchlorid bildet einen Bestandtheil der Ripart- und Petit'schen Flüssigkeit.

Kupfersulfat, Cuprum sulfuricum, Cuprisulfat, Kupfervitriol: $CuSO_4 + 5H_2O$, blaue Krystalle, in Wasser bei 20° zu 42,3% löslich, in absolutem Alkohol unlöslich. Die wässerige Lösung reagirt sauer. Bei 100° verliert es 4 Moleküle, bei 200° auch das fünfte Molekül Krystallwasser und zerfällt zu einem weissen Pulver, das begierig aus der Luft Wasser anzieht und sich dabei blau färbt. Mit den Sulfaten der Alkalimetalle liefert es Doppelsalze, mit den Salzen der Schwermetalle gemischte Vitriole.

Das Kupfersulfat hat ausgedehnte Anwendung in der Mikrotechnik gefunden. Im wasserfreien Zustand dient es vielfach zum Entwässern von Alkohol und Aether, auch als Fixations- und Konservirungsmittel wird es benutzt.

Das Kupfersulfat ist fast niemals für sich allein für Fixation verwandt worden, sondern nur im Gemisch.

v. Wasilewski berichtet vom »abschreckenden Erfolg« der Fixation mit einer 5%igen Lösung. Nach Fr. Schwarz löst es das Chromatin, nach Malfatti ist Nukleïn und Nukleïnsäure in koncentrirtem Kupfersulfat unlöslich. Magini findet bei der Anwendung einer 2%igen Kupfersulfatlösung

zur Maceration des Lobus electricus von Torpedo den Kerninhalt zerstört, Nukleolus und Membran erhalten.

Bédot fixirt für makroskopische und auch histologische Zwecke Siphonophoren durch Zusatz einer grossen Menge von 15—20%igen Kupfersulfatlösung zu dem Meerwasser, in dem sich die Thiere befinden; nach einigen Minuten Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure, um Entstehen von Niederschlägen zu verhindern. Fixationsdauer 4—5 Stunden; dann Zusatz von 2 Volumina starker Flemming'scher Lösung auf je 1 Volumen Kupfersulfat, darin bleiben die Thiere einen Tag. Mit der Pipette fügt man 25%igen Alkohol hinzu und steigert die Alkoholkoncentration ganz vorsichtig, so dass in 14 Tagen ein Alkohol von etwa 70% vorliegt. Aufbewahren in 90%igem Alkohol.

Kupfersulfatgemische. Kupfersulfat mit Essigsäure: Fol erwähnt ohne nähere Angabe der Zusammensetzung dieses Gemisch als gutes Härtungsmittel, zumal für Amphibieneier.

Kupfersulfat mit Alkohol und Holzessig: Remak fixirte Froscheier in 6 Theilen Kupfersulfat, je 100 Theilen Wasser und 20—30%igen Alkohols mit einer Spur Holzessig. Goette modificirte dieses Gemisch nach Fol in folgender Weise: 2%ige wässerige Kupfersulfatlösung und 25%igen Alkohol aa. 50, rektificirter Holzessig 35 Tropfen.

Kupfersulfat und Zinksulfat: Friedländer fixirt Siphonophoren in einem Gemisch von je einem Theile beider Substanzen auf 8 Theile Wasser.

Kupfersulfat mit Kaliumbichromat und Alkohol siehe Chromsaure Salze.

Kupfersulfat mit Osmiumsäure siehe Osmiumsäure.

Kupfersulfat mit Sublimat siehe Sublimat.

Kupfersulfat, Sublimat, Eisessig und Formol siehe Sublimat und Formol.

Litteratur: v. Wasilewski (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 16, 1899), Schwarz (Cohn's Beiträge, Bd. 5, 1887), Magini (Arch. ital. Biol., Bd. 32, 1894/95), Malfatti (Ber. med. Vereins zu Innsbruck, Jahrg. 20, 1891/92), Bédot (Arch. Sc. Phys. Nat. Genève [3.], Tome 21, 1889), Fol (Lehrbuch, pag. 106), Kenyon (Journ. Comp. Neur. Cincinn., Vol. 6, 1896), Remak (Untersuchungen über die Entwicklung der Wirbelthiere. Berlin 1855, pag. 127), Goette (cit. nach Fol, Lehrbuch, pag. 106), Friedländer (Biol. Centr., Bd. 10, 1890). *Poll*, Berlin.

L.

Lab siehe Enzyme.

Labyrinth siehe Gehörorgan.

Laccase siehe Enzyme.

Lackmus. Der käufliche Lackmus wird dargestellt aus den verschiedensten Flechtenarten, wie Rocella, Lekanora, Variolaria. Die gemahlenen Flechten werden mit Ammoniumkarbonat oder Harn, Pottasche und Kalk gemischt und der Gährung überlassen, dann mit Gyps durchgearbeitet und in Würfel gepresst. Es enthält diese Masse neben den anorganischen Bestandtheilen hauptsächlich drei Farbstoffe: das Erythroleïn, das Erythrolitmin und das Azolitmin, von denen das letzte das wichtigste ist. Wahrscheinlich ist das wirksame Princip des Lackmus eine schwache Säure von rother Farbe, die mit Alkalien blaugefärbte Salze bildet. Reduktionsmittel wirken entfärbend auf sie. Für die Mikrotechnik ist der Lackmus nur von untergeordneter Bedeutung, weit wichtiger ist das ihm nah verwandte Orceïn.

Lactophenol, ein Gemisch von Phenol (kryst.) 20 Grm., Milchsäure (spec. Gew. 1,21) 20 Grm., Glycerin (spec. Gew. 1,25) 40 Grm. und dest. Wasser 20 Grm. Es ist von Amann in Verbindung mit Kupferchlorid und Kupferacetat zur Konservirung von Algen und Moosen empfohlen worden. Das Chlorophyll soll sich darin vorzüglich halten.

Litteratur: Amann (Zeit. wiss. Mikr., Bd. 13, 1896).

Lähmen siehe Narkose.

Lävulose, Fruchtzucker: $C_6 H_{12} O_6$, farbloser Syrup, der in Wasser sehr leicht und auch in absol. Alkohol leicht (20%) löslich ist. Brechungsindex = 1.5.

Die Lävulose ist von verschiedenen Seiten als Einschlussmedium für thierische und pflanzliche Präparate empfohlen worden.

Lakmoïd wird erhalten durch Erhitzen eines Gemisches von Resorcin, Natriumnitrat und Wasser und bildet rothe amorphe Massen, die sich leicht in Alkohol, Aceton und Eisessig, schwerer in Wasser und Aether lösen und in Benzol und Chloroform unlöslich sind. Die Eigenschaft der rothen Lakmoidlösung, sich durch minimale Spuren von Alkali blau zu färben, findet in der analytischen Chemie ausgedehnte Anwendung.

Kultschitzky färbt Milzschnitte aus Müller einen oder mehrere Tage lang in einer gesättigten Lösung von Lakmoid in Aether. Es färben sich die Muskeln blau, das Bindegewebe roth, Erythrocyten schwarz, Leukocyten grau.

Litteratur: Kultschitzky (Arch. mikr. Anat., Bd. 46, 1895).

